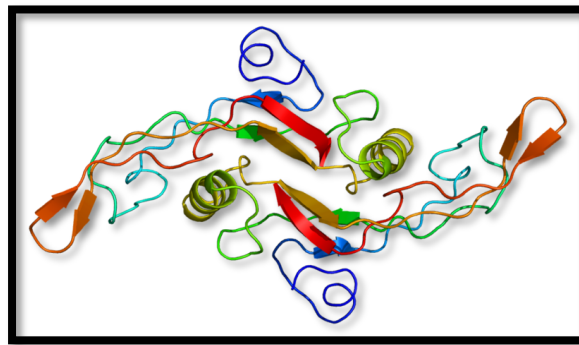




TESIS DOCTORAL



***PAPEL DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE
BETA (TGF- β) EN LA INFLUENCIA GENÉTICA A LA
REABSORCIÓN RADICULAR APICAL EXTERNA DURANTE EL
TRATAMIENTO DE ORTODONCIA.***

***Departamento de Estomatología
Facultad de Odontología
Universidad de Sevilla, 2016***

Nuria Nieto Nieto

DIRECTORES

D. José Enrique Solano Reina

D. Alejandro Iglesias Linares



Facultad de Odontología

Dpto. de Estomatología

C/ Avicena s/n

41009 Sevilla

D. José Enrique Solano Reina, Doctor en Medicina y Cirugía y Catedrático de Ortodoncia de la Universidad de Sevilla y **D. Alejandro Iglesias Linares**, Doctor en Odontología y Profesor de Ortodoncia de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICAN:

Que el trabajo presentado por **Dña. Nuria Nieto Nieto** bajo el título “PAPEL DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF- β) EN LA INFLUENCIA GENÉTICA A LA REABSORCIÓN RADICULAR APICAL EXTERNA DURANTE EL TRATAMIENTO DE ORTODONCIA”, ha sido realizado bajo nuestra dirección como Tesis Doctoral.

Que el citado trabajo es original y cumple todos los requisitos éticos y formales, se ajusta con exactitud al método científico y es coherente con la trayectoria investigadora de su autora y con su proyecto de investigación. Para que conste, a efectos académicos, firmamos el presente certificado en Sevilla el día 8 de Febrero de 2016.

Fdo. D. José Enrique Solano Reina

Fdo. D. Alejandro Iglesias Linares

Agradecimientos

AGRADECIMIENTOS

Desde estas líneas pretendo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que durante estos años de trabajo han estado a mi lado, amigos, familia y compañeros, y que, directa o indirectamente, han hecho posible que este proyecto se llevara a cabo.

Al Dr. Alejandro Iglesias Linares, por haber confiado en mí y ofrecerme su apoyo y ayuda en todas las etapas de la elaboración de esta Tesis. Por sus consejos, tiempo dedicado y por tener siempre la puerta abierta para resolver dudas. Gracias por tu perseverancia y rigor a la hora de dirigir el trabajo.

Al Dr. Enrique Solano Reina, por permitirme formar parte de su grupo de investigación. Por preocuparse de buscar los medios que me han permitido finalizar este estudio. Por ser todo un ejemplo de trabajo, superación y por su gran labor docente.

A todos mis profesores del Master de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Universidad de Sevilla, por su trabajo incansable, por su paciencia para enseñarme y su ayuda en todo momento, por su profesionalidad, eficiencia y todas las horas compartidas para sacar adelante este trabajo.

A todos mis compañeros del Master de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Universidad de Sevilla, con quienes he compartido estos últimos años: Inma, Blanca, Paula, Marta, Elena, Adriana... por todo el tiempo compartido y disfrutado, por su gran compañerismo, por crear este fantástico ambiente de trabajo y por toda la ayuda prestada.

A todo el personal de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, por crear este buen ambiente de trabajo.

A mis amigos, los de siempre y los que he ido conociendo a lo largo de todos estos años, por todos los momentos vividos y experiencias compartidas. Porque a pesar de la distancia, sé que siempre puedo contar con vosotros.

A mis familiares, por su interés a lo largo de todo este tiempo, por su comprensión, aliento y respaldo. Con especial cariño, a mis padres Maribel y Emilio, a mis hermanos Alicia, Carlos y Elena, a quienes debo el camino recorrido hasta el momento, por darme todo sin esperar nada a cambio. Y como no, gracias a mi sobrinos, Nacho y Elsa. "Hacéis que cada mañana me despierte con una sonrisa".

Finalmente a Fran, por su apoyo incondicional, por su paciencia y por estar a mi lado. Gracias por ser como eres, por ayudarme a no rendirme ante las dificultades.

A todos, GRACIAS

ÍNDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. LA REABSORCIÓN RADICULAR.....	11
1.1.1. Concepto de reabsorción radicular	11
1.1.2. Clasificación	13
1.1.2.1. Según localización	13
1.1.2.1.1. Reabsorción Interna	13
1.1.2.1.2. Reabsorción Externa	13
1.1.2.2. Según su naturaleza	14
1.1.2.3. Según factores estimulantes.....	20
1.1.3. Epidemiología	20
1.1.4. Estructuras anatómicas implicadas	23
1.1.4.1. Cemento.....	24
1.1.4.1.1. Estructura	25
1.1.4.1.2. Tipos de cemento.....	28
1.1.4.1.3. Embriología.....	29
1.1.4.1.4. Funciones.....	32
1.1.4.1.5. Barreras contra la reabsorción del cemento.....	33
1.1.4.2. Dentina.....	34
1.1.4.2.1. Anatomía dentinaria.....	35
1.1.4.2.2. Zonas de la dentina.....	40
1.1.4.2.3. Clasificación de los tipos de dentina.....	40
1.1.4.3. Ligamento periodontal	42
1.1.4.3.1. Estructura	42
1.1.4.3.2. Composición.....	44
1.1.4.3.3. Funciones	45
1.1.4.4. Hueso alveolar	46
1.1.4.4.1. Composición, estructura ósea y funciones	46

1.1.4.4.2. Elementos celulares implicados: osteoblastos, osteocitos, osteoclastos.....	48
1.1.4.4.2.1. El osteoblasto.....	52
1.1.4.4.2.2. El osteocito.....	53
1.1.4.4.2.3. El osteoclasto	54
1.2. ETIOPATOGENIA DE LA RRAE EN ORTODONCIA.	56
1.2.1. Variabilidad individual	59
1.2.2. Estimación de la influencia de los factores genéticos	61
1.2.3. Fisiopatología y regulación molecular	68
1.2.3.1. ATP / P2XR7/IL-1 β	68
1.2.3.2. RANK/RANKL/OPG.....	72
1.2.3.3. Osteopontina	74
1.2.3.4. Factores de crecimiento insulínico dependientes (IGF-I y II).....	76
1.3. GENÉTICA.....	78
1.3.1. Conceptos generales	78
1.3.2. Genoma humano, ADN y variaciones genéticas	78
1.4. FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF- β).....	83
1.4.1. Estructura.....	83
1.4.2. Receptores del TGF- β	87
1.4.3. Ruta de señalización del TGF- β	89
1.4.4. Funciones e implicaciones biológicas del TGF- α y TGF- β	92
1.4.5. Interacción del TGF- β en la reabsorción radicular.....	100
2- HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	103
3- OBJETIVOS	106
3.1. Objetivos generales.....	106
3.2. Objetivos específicos	106
4- MATERIAL Y MÉTODOS	108
4.1. Búsqueda bibliográfica.....	108

4.1.1. Fuentes de información.....	108
4.1.2. Estrategia de búsqueda	108
4.2. Diseño metodológico	109
4.3. Población de estudio y selección de la muestra.....	109
4.3.1. Criterios de selección de la muestra.....	109
4.4. Muestreo realizado y distribución de la muestra	110
4.5. Variables clínicas analizadas y medidas radiográficas	111
4.6. Selección de muestras biológicas para genotipado de la muestra	113
4.7. Análisis estadístico	115
4.7.1. Cálculo del error y precisión del método.....	115
4.7.2. Cálculo del tamaño muestral.....	115
4.7.3. Cálculo de las distribuciones, frecuencias y asociación con la RRAE	116
5- RESULTADOS.....	118
6- DISCUSIÓN.....	128
7- CONCLUSIONES.....	143
8- BIBLIOGRAFÍA	145
9- ANEXOS	175
ANEXO I. ABREVIATURAS	176
ANEXO II. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA.....	180
10- PUBLICACIONES.....	181

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA REABSORCIÓN RADICULAR

1.1.1. Concepto de reabsorción radicular

La reabsorción radicular (RR) es un proceso patológico de origen multifactorial donde se pierde tejido dental y en ocasiones acompañado de pérdida a nivel del hueso alveolar, producida muchas veces como respuesta a los procesos patológicos como infecciones de tipo crónico, ya sea de la pulpa o del ligamento periodontal.¹⁻⁵

Se ha descrito que tiene una influencia genética y está influenciada por los tratamientos de ortodoncia y tiene como consecuencia la pérdida de tejido, ya que afecta al cemento y a la dentina de la raíz de un diente o un conjunto de dientes.⁶⁻⁸

Cuando la reabsorción radicular se produce en dentición temporal es un proceso normal, esencial y fisiológico. Normalmente este fenómeno se produce previamente a la erupción de los dientes permanentes; activado por fuerzas generadas por la propia erupción y por el aumento de las fuerzas masticatorias generado durante el desarrollo de la dentición permanente.^{9,10}

La reabsorción radicular en dientes permanente no ocurre de forma natural y convencionalmente tiene una naturaleza inflamatoria. Así, la reabsorción radicular en la dentición permanente es un evento patológico, que si no es tratado, puede resultar en la pérdida prematura del diente afectado. Es un fenómeno frecuente que no necesariamente va ligado a algún tipo de patología periodontal.¹¹⁻¹³

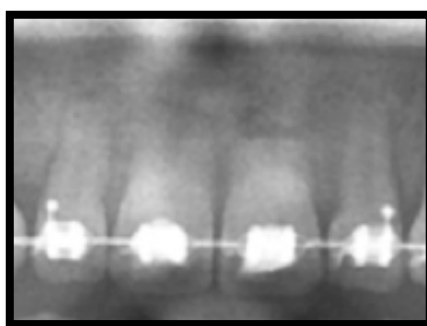


Figura 1. Radiografía periapical de un paciente que presenta reabsorción radicular.

La reabsorción del cemento puede extenderse a la dentina subyacente e incluso a la pulpa y por lo general es indolora. Pudiéndose alternar con periodos de reparación y formación de cemento celular nuevo y no es continua.¹⁴ Aunque existen estudios que sugieren que tiene un importante componente genético,^{15,16} hasta el momento es imposible predecir y prevenir su aparición, y en función de la gravedad del proceso todavía estamos muy lejos de poder tratarla adecuadamente.^{17,18}

La reabsorción en dientes permanentes fue por primera vez descrita por Bates S. en 1856,¹⁹ y posteriormente por Ottolengui R. en 1914.²⁰ Las fuerzas ortodóncicas excesivas y mal manejadas pueden ocasionar una reabsorción de superficie, inflamatoria, por lo general transitoria, a nivel del hueso alveolar y del cemento, siendo el hueso alveolar menos resistente a la reabsorción que el cemento.⁵

El desencadenamiento de un proceso patológico de reabsorción radicular parece ser la interrelación que hay entre, la resistencia general contra la reabsorción y remodelación del hueso alveolar y el daño temprano de la barrera de las superficies de los dientes, es decir, el cemento. Los odontoclastos son las células que producen reabsorción de las raíces, tienen características funcionales e histológicas similares a los osteoclastos. La reabsorción se produce si los odontoclastos entran al tejido mineralizado a través de una abertura que hay entre las capas de las células formativas que cubren el tejido dentario.^{21,22}

En la reabsorción radicular se produce pérdida de tejido dental, en su proceso interactúan células inflamatorias, clásticas y células propias de cada tejido.^{23,24}

La reabsorción radicular se manifiesta tras tratamiento ortodóncico en mayor o menor grado. A veces se presenta como un fenómeno normal que se genera en los dientes temporales dando paso a la dentición permanente, y otras veces en dentición permanente con manifestaciones internas o externas.²⁵ Las fuerzas ortodóncicas cuando son aplicadas actúan de forma similar en el hueso y cemento, y estos tejidos están separados de la membrana periodontal.

El cemento es más resistente a la reabsorción si lo comparamos con el hueso. La aplicación de estrés mecánico ortodóncico causa movimientos en el diente mediante un remodelado local de los tejidos blandos y hueso alveolar. Las células clásticas que se encargan de la reabsorción radicular poseen características citológicas y funcionales similares.

1.1.2. Clasificación

Los dos tipos principales de reabsorción radicular existentes que pueden dañar la raíz del diente son: interna y externa.²⁶⁻²⁸

Puede producirse en cualquiera de los tercios del diente y ser más o menos profunda. La reabsorción externa es la más frecuente y su presencia es elevada en adultos.

En general, la mayor parte de las lesiones se localizan a nivel del tercio apical.²⁹⁻³²

Existen diferentes tipos de clasificaciones, entre ellas encontramos según su localización, según su naturaleza y según los factores estimulantes.

1.1.2.1. Según localización

Se ha establecido la diferencia entre reabsorción interna y externa, aunque en ocasiones se pueden encontrar los dos tipos en un mismo diente.²³

1.1.2.1.1. Reabsorción Interna

Este tipo de reabsorción está asociada con una inflamación crónica de la pulpa. Se produce cuando son destruidos los odontoblastos de un área de la superficie radicular y por lo tanto no se produce más predentina pudiéndose presentar en algunos casos necrosis de toda la pulpa. Cuando se observa a nivel radiográfico lagunas o lesiones radiolucidas en el conducto, estaría indicado la realización de tratamiento endodóntico.³³⁻³⁸

La reabsorción radicular interna se detecta clínicamente como hallazgo radiográfico y suele ser asintomática. Radiográficamente se caracteriza por una dilatación ovalada en el interior del conducto. En este tipo de reabsorción no se produce lisis del hueso adyacente.^{39,40}

1.1.2.1.2. Reabsorción Externa

Se trata de un proceso patológico desencadenado por un estímulo externo que avanza desde el cemento hacia la dentina y pudiendo afectar a la superficie externa o lateral de un diente o conjunto de dientes.⁴¹

La reabsorción radicular externa se produce en ocasiones como consecuencia de los movimientos ortodóncicos, y según diversos estudios, los movimientos dentales intencionales, especialmente fuerzas intrusivas y fuertes, incrementan el riesgo de reabsorción radicular. Las distintas variables del tratamiento ortodóncico tales como los movimientos, fuerzas aplicadas y duración, claramente juegan un papel importante en la

reabsorción radicular externa. Estos factores cuando se aplican de manera incorrecta originan la reabsorción radicular. El movimiento de intrusión es probablemente el que más perjudica la raíz dental, ya que el periodonto asociado y el ápice radicular pueden experimentar una alta compresión por el estrés causado ante las fuerzas aplicadas a la corona.⁴¹

Los factores etiológicos son muy variados en este tipo de reabsorción. Posteriormente los analizaremos. Entre ellos encontramos; fuerzas mecánicas excesivas, fuerzas oclusales excesivas, inflamaciones periapicales, reimplantación de dientes, retención de dientes, tumores y quistes en el hueso alveolar asociados a las raíces de los dientes, trauma dentoalveolar y luxaciones leves, moderadas y severas, blanqueamiento de dientes no vitales, corrosión galvánica de los pernos elaborados con metales no preciosos, terapias con radiaciones en pacientes con cáncer, enfermedad periodontal o enfermedades sistémicas.^{42,43}

Se ha descrito también la llamada reabsorción radicular externa idiopática, la cual no puede asociarse a ninguna causa.^{44,45} Se detecta en un gran porcentaje de la población adulta. Puede tener un carácter hereditario o familiar.^{46,47}

1.1.2.2. Según su naturaleza

Andreasen realizó la clasificación de la reabsorción radicular externa (RRE) en tres tipos en función de su etiología y patogenia:⁴⁸

En primer lugar la reabsorción superficial o transitoria, la cual está causada por la agresión al ligamento periodontal, pudiendo ser reparada si desaparece la agresión. Si hay agravio o irritación de la dentina, cemento o ligamento periodontal, las células clásticas que provocan la reabsorción serán atraídas a las áreas afectadas de la superficie radicular y producirán reabsorción como parte de la función normal de las células.³³ Por el proceso de fagocitosis se recogerá la basura celular del tejido desbridado y microbios de invasión como consecuencia de la respuesta inflamatoria al tejido dañado. La fagocitosis se lleva a cabo por elementos del sistema fagocítico mononuclear, constituido por neutrófilos y fagocitos mononucleares; los osteoclastos también se describen como participantes en el desbridamiento de las lesiones en tejido duro. La fagocitosis mononuclear se da a partir de promonocitos en la médula ósea. La entrada a la sangre es como monocitos y se vuelven macrófagos (histiocitos tisulares) en el tejido conectivo. Los macrófagos emigran y responden al sitio de la injuria por factores quimiotácticos del macrófago derivados en

productos secundarios de hueso y tejido. Los macrófagos poseen una gran cantidad de gránulos citoplasmáticos densos heterogéneos, los cuales contienen hidrolasas ácidas, que tienen la capacidad de digerir tejido desbridado y materia foránea. Estos fagocitos, que son células de reabsorción entran al foco inflamatorio con el propósito expreso de introducir y eliminar el material no deseado, como bacterias, células muertas y tejido desbridado. Sin embargo, se ha demostrado que las células de reabsorción requieren de estímulos continuos para la fagocitosis. Este tipo de eliminación de basura involucrado en el desbridamiento inicial de la lesión, no parece que sea suficiente para sostener la reabsorción por más de 2 a 3 semanas. En ausencia de estimulación adicional de las células, normalmente ocurre un proceso de reparación con un tejido parecido al cemento en la superficie externa de la raíz y en la pared del conducto radicular. Algunos estudios han demostrado que sólo hay cambios inflamatorios menores, y el ligamento periodontal nuevo y el cemento se comienza a formar en la superficie externa de la raíz hasta una semana después del daño. Este tipo de reabsorción limitada ocurre con cualquier injuria al ligamento periodontal o cemento y se denomina reabsorción superficial o transitoria. Los pacientes normalmente no experimenta malestar, y al examen radiográfico, las raíces aparecerán normales porque el defecto de reabsorción es mínimo.^{33,49}

En segundo lugar la reabsorción inflamatoria, la cual se produce como consecuencia de la combinación entre la agresión al ligamento periodontal y la superficie radicular, con la presencia de bacterias en el canal radicular. Se produce como consecuencia de cambios histológicos en el tejido pulpar normal que se transforma en tejido de granulación con células gigantes que reabsorben las paredes de los dientes. Y va avanzando desde la superficie pulpar hacia la periferia.^{33,50} Esta reabsorción puede detenerse por la remoción temprana de la pulpa infectada y necrótica, seguido de un tratamiento endodóntico adecuado. Algunos estudios han demostrado que el factor de maduración o la edad puede ser relevante debido a que la reabsorción inflamatoria se da con más frecuencia en dientes inmaduros reimplantados y maduros jóvenes que en dientes maduros mayores. En aquellos casos en los que la pulpa permanece vital y sin inflamación, sin una zona de leucocitos, la reabsorción que lleva a una reparación ocurrirá sin importar la profundidad de la cavidad de la reabsorción.

Por lo general, cuando se ha detectado una reabsorción inflamatoria, el hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) es a menudo considerado el revestimiento intra-canal de elección. La utilización del Ca(OH)₂ ha sido sugerido para promover la cicatrización debido al alto pH

y a sus propiedades antibacterianas. Las recomendaciones varían ampliamente según la longitud del tiempo de tratamiento con el Ca(OH)_2 antes de la obturación del conducto. Se realizó un estudio, el cual examinaba la incidencia de la reabsorción inflamatoria en dientes avulsionados con un tiempo de secado extraoral de 25 minutos y con pulpas removidas antes de 4 semanas, no hubo beneficios terapéuticos de un tratamiento interino con Ca(OH)_2 al compararse con la obturación inmediata con gutapercha y sellador. Por el contrario, si se realizaron otros estudios los cuales recomendaron el uso de 1 a 2 semanas con Ca(OH)_2 seguidas por la obturación con gutapercha y sellador en aquellos casos en los cuales un diente avulsionado se reimplanta antes de 1 hora y la pulpa es removida antes de 2 a 3 semanas. Además, se sugiere que ha habido una demora en la remoción de la pulpa cuando se detecta la reabsorción inflamatoria.^{41,49}

La reabsorción inflamatoria puede ser, a su vez, de dos clases.⁴¹ Se denomina transitoria, cuando el estímulo que provoca el daño actúa con mínima intensidad y durando un corto período de tiempo, por lo que el defecto es reparado por cemento y no se percibe radiológicamente. Mientras que se denominara progresiva cuando el estímulo dura un largo periodo de tiempo y el resultado puede ser o bien la pérdida del diente a los pocos meses (por exposición del conducto pulpar),^{33,51} o bien que al detenerse el estímulo infeccioso, se produce la sustitución de la zona afectada por un tejido similar al hueso, y como consecuencia se produce la anquilosis. Este último caso se correspondería con la reabsorción sustitutiva.

Para minimizar o prevenir la RRE inflamatoria, es fundamental eliminar las bacterias presentes en el conducto radicular. Cuando se produce un traumatismo que ha provocado luxación, en dientes con ápice abierto se podría esperar la revascularización, pero en dientes con ápice cerrado, se procederá a realizar el tratamiento endodóntico de los mismos, dado que las posibilidades de revascularización son mínimas.⁵²

La extrusión o intrusión de los dientes, así como los procesos de reposición, inevitablemente producen daños en la raíz, y se estimulará la quimiotaxis de las células reabsortivas de tejido duro. La reabsorción externa inflamatoria es una complicación muy frecuente en la luxación, estando relacionada con el estado de desarrollo radicular, los dientes con ápices abiertos son más proclives, ya que las paredes dentinales son más delgadas y/o túbulos dentinales más anchos.⁵² Además, el desplazamiento de los dientes da lugar a una disrupción de los vasos sanguíneos en el foramen apical y una necrosis pulpar. Los microorganismos alcanzan el canal pulpar a través de los cracks de esmalte-dentina y

de los túbulos dentinarios expuestos, y la infección se establecerá dentro de un periodo de 2-3 semanas. En este punto, la reabsorción radicular inducida por áreas desnudas en la superficie radicular podría haber expuesto la dentina tubular radicular. Los productos bacterianos procedentes del canal pulpar infectado, alcanzan las lagunas reabsortivas de la superficie radicular a través de los túbulos dentinarios y mantienen la reabsorción radicular.⁴¹

Y en tercer lugar la reabsorción por sustitución, la cual se produce debido a la fusión entre el hueso adyacente y la superficie radicular. El diente sufre metaplasia y hay continuo cambio de dentina y cemento por hueso.^{44,53,54} Depende de la pérdida de la capa cementoblástica, dando lugar a un proceso inmuno-patológico de la dentina. Las proteínas dentinarias deben estar confinadas y aisladas genéticamente para no convertirse en cuerpos extraños.

Esta situación es vista clínicamente como una complicación de las lesiones por luxación, especialmente en dientes avulsionados que han estado fuera de la cavidad oral un tiempo suficiente para que las células de la superficie se mueran. Cuando menos del 20% de la raíz es involucrada puede revertirse la anquilosis, cuando no son incorporados en el hueso alveolar y se volverán parte del proceso de remodelación normal del hueso, así se reabsorberán gradualmente y serán reemplazados por hueso.^{23,55}

En lesiones de luxación con pérdida de viabilidad de las células del ligamento periodontal o en casos de avulsión dentaria en los cuales daños extensos del ligamento han ocurrido por desecación o almacenamiento inapropiado, la cicatrización ocurre sin una intervención de la adherencia periodontal.⁵⁶ En función de la extensión de la injuria, la lisis celular ocurrirá en la superficie radicular donde el ligamento periodontal se ha vuelto necrótico. Cuando el daño tisular es leve, es decir con menos de 20% de la superficie radicular afectada, la reabsorción puede ser transitoria y puede reponerse por sí sola con células del ligamento periodontal sano adyacente. Por el contrario, en aquellas situaciones en la que los dientes han estado fuera de boca suficiente tiempo para que las células sobre la superficie radicular se desequen y mueran, la condición es progresiva y resultará en una eventual pérdida dentaria. Aquí, células del hueso alveolar reemplazan la adherencia periodontal y continúan la reabsorción de la raíz, reemplazándolo gradualmente con hueso alveolar; en lugar de células de tejido conectivo participando en la reparación del ligamento periodontal, por lo tanto el término de reabsorción por reemplazo es empleado.

La dentina radicular se fusiona al hueso alveolar y se produce la anquilosis. Se ha teorizado que las células protectoras, que son los cementoblastos de la superficie radicular se reemplazan por un tipo de células osteoblástica que responden a los factores normales involucrados en el remodelado óseo. Existe otra explicación que es que la raíz se vuelve parte del sistema esquelético y sobrelleva el mismo proceso de remodelado.⁵⁷

Hoy en día, la clasificación más utilizada relacionada al movimiento dentario es la de Malmgren y cols., realizada en 1982,⁵⁸ modificada por Janson y cols. en el año 2000, quienes clasificaron a las reabsorciones en: ausente, leve, moderada, acentuada y severa.⁵⁹

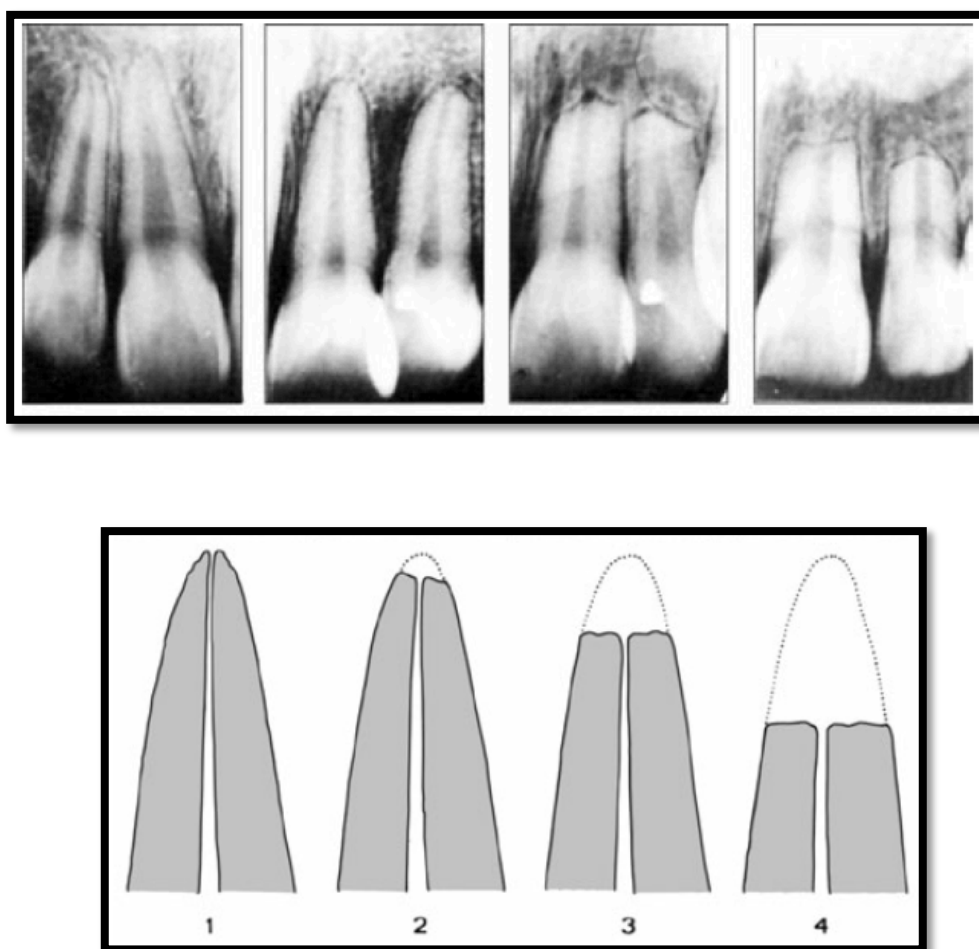


Figura 2. Clasificación de Malmgren.⁵⁸ Tomada de Sehr K y cols.¹⁴

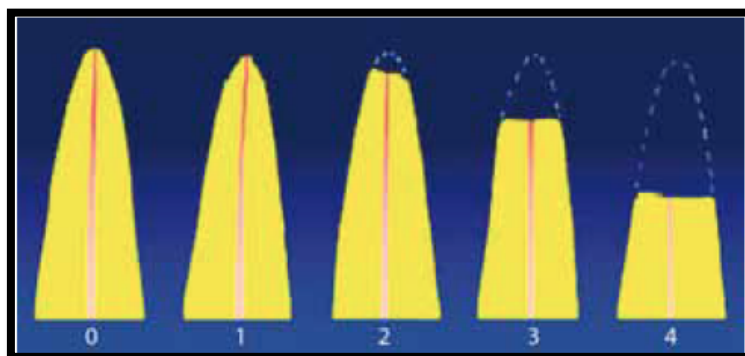


Figura 3. Clasificación de Malgrem modificada por Jason.
Modificada de Janson G y cols.⁵⁹

Índice de reabsorción radicular para una evaluación cuantitativa.^{58,59}

Grado 0: Ausencia de reabsorción radicular.

Grado 1: Reabsorción leve, se observa apenas contorno irregular de la raíz presentando longitud normal.

Grado 2: Reabsorción moderada, con pequeña pérdida radicular y el ápice presenta un contorno casi rectilíneo. Menos de 2 mm de la longitud de la raíz original.

Grado 3: Reabsorción acentuada, con gran pérdida radicular, de 2 mm a un tercio de la longitud radicular original.

Grado 4: Reabsorción radicular severa con pérdida mayor de un tercio de longitud radicular original.⁵⁹

La reabsorción cervical externa invasiva, se trata de un cuarto tipo, descrita por Heithersay,⁶⁰ tiene una naturaleza agresiva e invasiva. A diferencia del resto de las RRE, que suelen encontrarse en el tercio apical de la raíz, se localiza, en el límite inferior de la unión epitelial del diente a nivel de la región cervical. Se trata de una reacción post-traumática tardía, de patogenia desconocida, como consecuencia de una reacción inflamatoria del ligamento periodontal que produce daño en la estructura cementaria protectora de la superficie dentinaria. La pulpa no juega ningún papel en este tipo de reabsorción.⁶⁰⁻⁶⁴

Es asintomática y normalmente se detecta en una revisión de rutina. Radiográficamente es bastante variable. Se ven unas pequeñas sombras en la raíz, cuando el proceso se origina en zonas proximales.⁶⁵ Las reabsorciones cervicales pequeñas suelen tener buen pronóstico. Es recomendado eliminar el tejido inflamatorio con una cureta en el caso de que la reabsorción sea pequeña, regularizando los bordes del diente con una fresa y restaurando la lesión con composite. Si la reabsorción cervical invade la dentina hasta el

tercio superior de la raíz, se tendría que levantar un colgajo para curetear la zona y restaurarla posteriormente con composite. En determinados casos de reabsorción cervical muy avanzada, se requerirá la endodoncia.⁶⁶

1.1.2.3. Según factores estimulantes

Basándose en los factores estimulantes de la aparición de reabsorción, Fuss y cols.,⁵ propusieron una clasificación en la que distinguieron la provocada por una infección intrapulpar, factor causante de la reabsorción radicular interna y de la reabsorción inflamatoria perirradicular. La provocada por una infección periodontal, causante de la reabsorción radicular externa provocada por una lesión en el pericemento. Presión por movimiento ortodóncico, puede causar reabsorción radicular externa. Presión por dientes impactados, tumores o quistes, que pueden causar también reabsorciones radiculares externas. Reabsorción en un diente que haya sido luxado o avulsionado y reimplantado en el alveolo. Se cree que esta reabsorción y la anquilosis que suele acompañarla están relacionadas con el daño que se produce en el ligamento periodontal por haber tenido el diente fuera de la boca durante un largo tiempo, o por la falta de conservación adecuada del diente antes de reimplantarlo. Y la provocada por un trauma que cause daño en la dentina, el cemento o el ligamento periodontal, que puede provocar la activación de las células clásticas. Esto suele ser un proceso transitorio, pero con estimulación añadida puede convertirse en un proceso inflamatorio crónico, creando reabsorción radicular externa.⁵

1.1.3. Epidemiología

Podemos encontrar múltiples artículos en la literatura que hacen referencia al número de casos y frecuencia de los mismos. También existen estudios histológicos que asocian la reabsorción radicular al tratamiento de ortodoncia, existiendo estudios que afirman que un 90% de la reabsorción radicular se asocia al tratamiento de ortodoncia.⁶⁷

En los años 50 se hicieron estudios para examinar la presencia de reabsorción radicular en los dientes de individuos fallecidos, y encontraron que entre el 86 y el 100% de esos dientes presentaban algún tipo de reabsorción radicular, aunque fuera de poca intensidad.¹²

Existen autores que han demostrado en sus estudios que la reabsorción radicular apical

externa (RRAE) es más prevalente que la reabsorción radicular apical interna (RAAI) (Tabla 1).⁴⁶

Tabla 1: Epidemiología de la reabsorción radicular durante el tratamiento de ortodoncia.					
AUTOR	DIENTES AFECTADOS	FRECUENCIA DE REABSORCIÓN	CANTIDAD DE REABSORCIÓN	TÉCNICA EMPLEADA	OTROS DATOS
Kamonporn Nanekrunsan y cols., 2012. 68	Incisivos centrales y laterales sup		1.39±1.27 (8.24±7.22%) Incisivo central 1.69±1.14 mm (10.16±6.78%) incisivo lateral	Tratamiento de ortodoncia	350 Pacientes, 564 dientes tratados de ortodoncia
Marques y cols., 2012. 69	Incisivos superiores e inferiores	14,50%	>1/3 longitud original de la raíz (severa)	Método Arco de Canto	
Ilken Kocadereli y cols., 2011. 70	Incisivos centrales y laterales sup		0.98±0.74 mm en el 12, 0.6±0.39 en el 22	Radiografías periapicales al comienzo a los 3,6 y 9 meses del inicio	20 Pacientes edad 14.9±2.8, 80 dientes.
Yun Hoa y cols., 2011. 71	Incisivos centrales supe inf y premolares	27% los incisivos centrales superiores 2% los premolares sup	>1mm		163 Pacientes. Los incisivos centrales sup son los que más reabsorción sufren seguidos de los inc laterales sup, de inc centrales inf y de inc laterales inf.
Weltman y cols., 2010. 67	Todos los dientes	90%	>2mm		
Liou y cols, 2010. 72	Incisivos centrales superiores		2,5-2,8mm/16-20% de la longitud original de la raíz	Intrusión con microtornillos	
Pandis y cols., 2008. 73			No resultados estadísticamente significativos	Convencional /Autoligado	
Levander y cols., 1998; Killiany y cols., 2002. 74	Todos los dientes	1-5%	>4mm (severa) o > 1/3 de la longitud original de la raíz.		
Breznjak N. y cols., 2002. 8		100%		Tratamiento ortodoncia	Examen histológico
Sameshima GT. y cols., 2001. 75		25%	>2mm		860 Casos
Palma y cols., 2000. 76	Incisivos superiores	>90%	<2mm		
Palma y cols., 2000. 76		1-4%	>4mm (severa)		
Killiani DM y cols., 1999. 28		30%	>3mm		
Lupi y Linge y cols., 1996. 77		15%antes del tto y 73% despues del tto	RRsevera es infrecuente, >4mm en 1-4%de casos		
Mirabella y cols., 1995. 78	Incisivos superiores	40%	>2,5mm		
Harris EF y cols., 1993. 79		7-13%	1-3mm	Sin tratamiento de ortodoncia	Radiografías
				Es por fuerzas intrusivas de los dientes	
Stenvik A y cols., 1970. 80		90%			
Hemley S y cols., 1941. 81		3% de los dientes examinados			195 Pacientes
Rudolph CE y cols., 1940. 82		100% de los dientes tratados			439 Pacientes tratados con ortodoncia

Entre todos los estudios desarrollados, algunos de los más destacados son el de Lupi y Linge, los cuales indicaron que la incidencia de reabsorción radicular externa era de un 15% antes del tratamiento de ortodoncia y de un 73% después del mismo. En cuanto a la reabsorción radicular severa, la frecuencia es relativamente baja, una pérdida de 4 mm en la longitud de la raíz sólo ocurre en el 1-4% de los casos.⁷⁷

En 1995 Mirabella y Artun⁷⁸ llegaron a encontrar un 40% de incisivos superiores con más de 2,5 mm de reabsorción radicular apical en pacientes adultos. Estos autores analizaron fundamentalmente la morfología radicular, la longitud de la raíz, la cantidad de movimiento radicular y el tipo de mecánica utilizada. Determinaron que la cantidad de movimiento radicular y la presencia de raíces largas, delgadas y curvas aumentaron el riesgo de reabsorción radicular. También encontraron que el empleo de elásticos intermaxilares puede ser un factor de riesgo para los dientes que soportan los elásticos. Además, que existen otros factores etiológicos imposibles de ser determinados como la variación individual de la respuesta del organismo a las fuerzas ortodóncicas y la predisposición genética. En cuanto a la mecánica empleada, no llegaron a encontrar correlación significativa con la cantidad de intrusión y retracción. Los autores refieren que la cantidad de retracción por sí sólo no significa mayor pérdida radicular, existiendo otros factores involucrados, como el tiempo y la fuerza utilizados para realizar el movimiento.⁷⁸

En el 2012 Marques y cols., encontraron un 14,5% de reabsorción radicular severa en pacientes tratados con el método de arco de canto, si se compara los resultados de otros estudios, esto se considera una prevalencia alta.⁶⁹

Yun Hoa y cols., en su estudio realizado en 2011, encontraron que los incisivos centrales maxilares son los que más se reabsorben, presentando una RRAE de 1mm tras finalizar el tratamiento de ortodoncia en el 27% de los incisivos centrales maxilares, y en el 2% de los premolares superiores.⁷¹

Brezniak N. y cols., en su estudio realizado en 2002, refieren que al llevar a cabo un examen histológico de los dientes tras recibir el tratamiento de ortodoncia, se encuentra reabsorción radicular en el 100% de los casos.⁸

Kamonporn Nanekrungsan y cols., recientemente llevaron a cabo un estudio en el que analizaron a 350 pacientes, encontrando una media de reabsorción tras el tratamiento de ortodoncia de $1,39 \pm 1,27$ mm ($8,24 \pm 7,22\%$) en incisivo central y de $1,69 \pm 1,14$ mm ($10,16 \pm 6,78\%$) en incisivo lateral. Concluyeron que los factores de riesgo más destacados son la dilaceración radicular, raíces puntiagudas, casos de extracción de premolares, duración del tratamiento, condiciones alérgicas, edad, comienzo del tratamiento, resalte aumentado e historia de trauma facial.⁶⁸

Es indispensable diferenciar entre las reabsorciones radiculares provocadas por factores mecánicos relativos al tratamiento ortodóncico, y aquellas cuya etiología es idiopática. Es competencia del ortodoncista evitar las primeras. En función del diagnóstico que establezcamos, se determinará el pronóstico y el plan de tratamiento.

Se conoce que la evolución de las lesiones provocadas por fuerzas ortodóncicas, una vez retirados los aparatos, se mantiene estable. Hasta diez años después de finalizar el tratamiento de ortodoncia la cantidad de pérdida radicular estimada en un principio no sufre aumento.⁷⁶ Pero hasta el momento, no hay una opinión común sobre la conducta ante las reabsorciones idiopáticas, más asociadas a condiciones inherentes al individuo, ya que no son terapéuticamente evitables. Por lo tanto, se plantea la necesidad de establecer un protocolo de actuación encaminado a evitar la aparición de las reabsorciones radiculares tras la realización del tratamiento de ortodoncia, ya que es una complicación frecuente en la clínica. No está aun completamente clara la conducta a seguir, debido a que con las mismas medidas terapéuticas y prescripciones ortodóncicas, la mayor parte de los pacientes no responden de igual manera.⁷⁶

1.1.4. Estructuras anatómicas implicadas

Las estructuras anatómicas del diente que se ven afectadas por la reabsorción radicular son: el cemento, la dentina, el ligamento periodontal y el hueso alveolar.

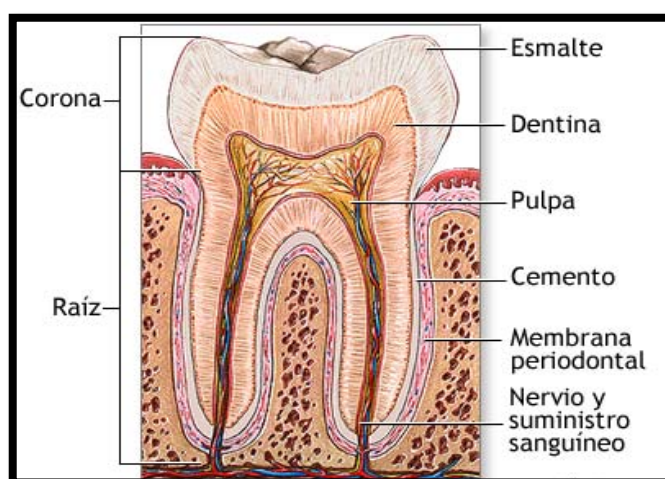


Figura 4. Anatomía y estructura dental. Tomada de <http://www.fotosimagenes.org/esmalte-dental>.⁸³

1.1.4.1. Cemento

El cemento es un tejido conectivo avascular, duro, que carece de inervación propia y cubre a la dentina en la raíz del diente. Su función principal es la de servir como anclaje para que se inserten las fibras del ligamento periodontal, fijando el diente a su cavidad alveolar.⁸⁴

La maduración del cemento es crítica para que se produzca una adecuada maduración del resto de los tejidos periodontales, así como para su regeneración y mantenimiento. Respecto a sus características celulares y moleculares, el conocimiento es continuo aunque aún pobre, a pesar de muchas investigaciones y de reconocer que el cemento juega un papel fundamental en los procesos de reparación del periodonto y como consecuencia, en el mantenimiento de la salud periodontal.⁸⁴

El cemento ha sido un tejido casi desconocido hasta hace poco, a pesar de que fue descrito por primera vez en 1835.⁸⁵

Se trata del único tejido en el cual las proteínas específicas que expresan las células propias del cemento, es decir los cementoblastos, no han sido identificadas como tales.⁸⁶⁻⁸⁸

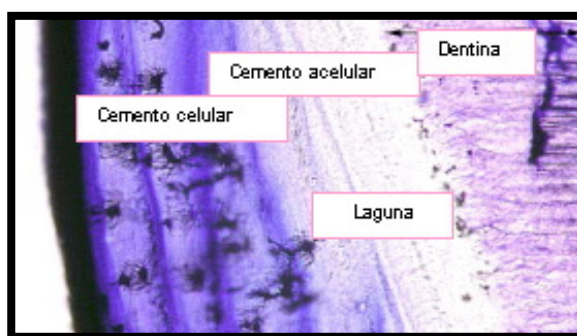


Figura 5. Imagen histológica del cemento dentario, en el cual se puede apreciar el cemento celular, el cemento acelular y las lagunas en las que quedan atrapados los cementoblastos. Tomado de http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_22.htm⁸⁹

En el esmalte y en la dentina, hay proteínas claramente diferentes y factores propios que regulan sus funciones. El cemento, por el contrario, no parece diferenciarse del hueso, tanto en su estructura como en los factores que regulan su desarrollo. Se ha descrito que los factores reguladores en la formación y desarrollo tisular son aportados en parte por las células epiteliales variando según el medio, e influyen en la diferenciación de las células del folículo a cementoblastos⁹⁰ así, las células epiteliales de la vaina radicular sufren una transformación a cementoblastos, que a su vez, proporcionarán la matriz adecuada para la

formación del cemento.

El color del cemento es blanco nacarado, de dureza similar a la del hueso laminar, menor que el de la dentina y el esmalte. Su radiopacidad es similar a la del hueso y menor que la del esmalte y la dentina.

Si describimos anatómicamente el cemento, este representa la cubierta externa de la raíz del diente. En aquellos casos en los que el diente tiene más de una raíz, el cemento puede disponerse aisladamente en cada una de ellas, uniéndose en la furca. Ocupar todo el espacio interradicular, determinando la soldadura de las raíces. O puede ser la dentina la que realice esa fusión; el cemento, entonces, la cubrirá como si se tratara de un diente unirradicular.⁹¹

El cemento al cubrir la porción radicular de los dientes, por su cara interna se relaciona con la dentina, el esmalte (unión amelocementaria) y la pulpa (ápice radicular) y por su cara externa con el ligamento periodontal.

1.1.4.1.1. Estructura

El cemento se trata de un tejido conjuntivo especializado, estructuralmente similar al hueso y a la dentina.⁸⁴ Aunque tiene una composición semejante al hueso, se reabsorbe más difícilmente que éste, por lo que es más resistente a los factores que producen la reabsorción del hueso, aunque también puede sufrir fenómenos de remodelación, los cuales serán menos marcados.⁵¹

Los dos tejidos, el cemento y el hueso, crecen por aposición, poseen laminillas, y cuando el cemento presenta células, se alojan en lagunas al igual que las células óseas, sin embargo, a diferencia del tejido óseo, el cemento no esté vascularizado y carece de inervación propia.⁹¹

El cemento contiene un 65% de material inorgánico según Berkovitz y cols., porcentaje que Gómez de Ferraris y Campos Muñoz⁹² coincidiendo con Ten Cate⁹³ consideran al igual que el hueso, como de un 46 a 50 %, un 23% de materia orgánica, 22% para Gómez de Ferraris y Campos Muñoz.⁹²

El cemento está formado por células, cementoblastos y cementocitos rodeados de una matriz extracelular calcificada. Al igual que en el hueso, el principal componente inorgánico de su matriz es el fosfato cálcico en forma de cristales de hidroxiapatita. Los cristales de hidroxiapatita, se alojan dentro y entre las fibras colágenas, de forma similar a lo que sucede en el hueso. Además del calcio y el fosfato existen cantidades variables de otros diversos oligoelementos, como el sodio, potasio, magnesio, hierro, azufre y flúor,

siendo este último, el más abundante.⁸⁴

La mayor parte de la matriz orgánica está constituida por fibras de colágeno que constituyen el 90% de la parte proteica de este tejido y que forma una red fibrosa semejante a la que forma la matriz orgánica del tejido óseo. El resto de la porción orgánica del cemento lo constituye la sustancia fundamental, formada por glicosaminoglicanos, proteoglicanos y glicoproteínas.

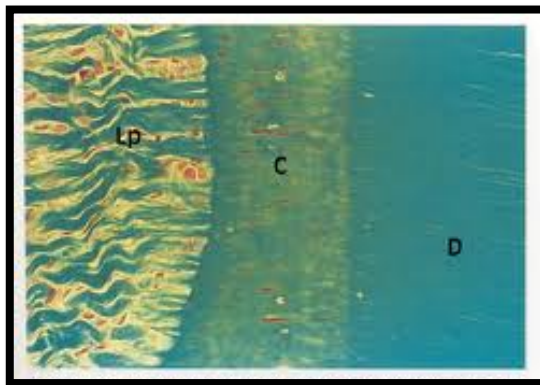


Figura 6. Imagen histológica del Ligamento periodontal, Cemento y Dentina. Lp: Ligamento periodontal. C: Cemento radicular. D: Dentina. Tomado de García-Ballesta C y cols.⁹⁴

La matriz fibrilar está formada por dos tipos de fibras colágenas: las fibras extrínsecas, que son terminaciones de las fibras principales del ligamento periodontal, también llamadas fibras de Sharpey, orientadas, en su mayor parte, perpendicularmente a la unión cemento-dentinaria y las fibras intrínsecas, que son fibras propias del cemento producidas por los cementoblastos, y orientadas, en su mayor parte, paralelamente a la unión cemento-dentinaria y mineralizadas, a diferencia de las fibras extrínsecas. Existen además fibras elásticas y oxitalánicas.⁸⁴

El colágeno de tipo I es el componente orgánico predominante de la matriz. Otros tipos de colágeno asociados con el cemento incluyen el tipo III, encontrado en alta concentración durante el desarrollo y la reparación/regeneración de los tejidos mineralizados; y el tipo XII, que se une al colágeno de tipo I y a proteínas no colágenas de la matriz. Se han encontrado pequeñas cantidades de otros tipos de colágeno, incluyendo el tipo V, VI, y XIV en el cemento maduro, pero pueden proceder de contaminación desde el ligamento periodontal.⁹¹

Las proteínas que son extraídas del cemento maduro estimulan la unión celular, la migración y la síntesis proteica de fibroblastos de la encía y células del ligamento periodontal. El análisis de estos extractos de cemento revela la presencia de sialoproteínas

del hueso, osteopontina, vitronectina y fibronectina. Además se han identificado, osteocalcina, ácido carboxiglutámico, osteonectina, proteoglicanos y varios factores de crecimiento.^{87,91}

Además se ha descrito la presencia de proteínas del esmalte como amelogeninas.^{88,95}

Las células del cemento son fenotípicamente diferentes del hueso, aunque no se ha podido determinar su diferencia genética. En función del tipo y desarrollo del cemento nos encontraremos dos tipos celulares: cementoblastos y cementocitos. Los cementoblastos son células cúbicas, con prolongaciones largas cuando se encuentran activos, o aplanadas cuando están inactivas, apoyadas a la superficie del cemento en la zona del ligamento periodontal, derivan de las células mesenquimales del saco dentario en las primeras fases de la cementogénesis, y de los fibroblastos del ligamento periodontal, cuando la raíz dentaria está completamente formada. Entre sus funciones está la de sintetizar tropocolágeno que formará las fibras colágenas intrínsecas, y proteoglicanos o glicosaminoglicanos para la matriz extracelular. En un diente funcional se los considera elementos estructurales del ligamento periodontal. Cuando las raíces están en desarrollo suele haber una capa continua de cementoblastos activos en toda su extensión, mientras que en las raíces completamente formadas, sólo hay cementoblastos activos a partir del tercio medio o sólo en el tercio apical. Localizado entre los cementoblastos y el cemento mineralizado, existe el llamado cemento inmaduro o precemento. Su espesor es de 3 a 5 micras y estructuralmente encontramos, abundante glucógeno, numerosas mitocondrias, receptores para factores de crecimiento, etc.⁸⁴

Los cementocitos son cementoblastos que quedan en el cemento mineralizado, alojados en cavidades llamadas cementoblastos.

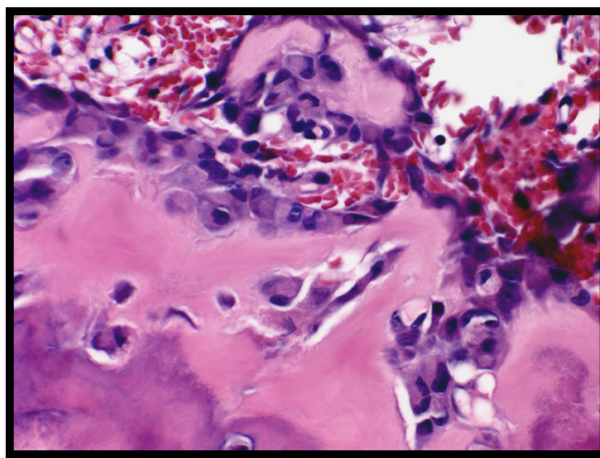


Figura 7. Cementoblastos y cementocitos en la matriz cementoblástica. Tomada de <http://conganat.uninet.edu/6CVHAP/autores/trabajos/T059/>⁹⁶

Los cementocitos tienen entre 10 a 20 prolongaciones citoplasmáticas que se desarrollan por los conductillos calcíforos de los cementoblastos hasta la superficie externa, la cual se une al ligamento periodontal. Se trata de células ovoideas con el eje mayor paralelo al eje longitudinal de la raíz y sus características estructurales corresponden a células con muy baja actividad.⁸⁴

En el cemento se pueden encontrar además agrupaciones celulares denominados restos epiteliales de Malassez los cuales proceden de los restos epiteliales de la vaina radicular de Hertwig. También podemos encontrar cementoclastos y odontoclastos similares a los osteoclastos que se localizan cerca de la superficie y aparecen cuando se produce reabsorción radicular.

1.1.4.1.2. Tipos de cemento

Se han distinguido subtipos de cemento gracias al empleo del microscopio óptico y electrónico. Se pueden clasificar en función de la presencia de células (cemento celular) o ausencia de células (cemento acelular), y el origen de las fibras de colágeno (extrínseco o intrínseco). Todos estos subtipos no están innervados, tienen una capacidad de remodelación escasa y son avasculares, por lo que son completamente diferentes al hueso. Se parecen al hueso en cuanto a que las enfermedades que afectan al hueso pueden también afectar al cemento y su composición es similar.

El cemento acelular, es el primero que se forma, se localiza en la zona cervical y puede extenderse hasta los dos tercios cervicales. Contiene sólo fibras extrínsecas, por lo que es llamado cemento acelular de fibras extrínsecas.⁹⁷ El cemento celular, secundario o laminar, se está formando durante toda la vida, su grosor va aumentando hacia apical y contiene ambos tipos de fibras (extrínsecas e intrínsecas), recibe el nombre de cemento celular estratificado mixto.⁹⁸

La formación del cemento acelular comienza antes de que el diente erupcione, conjuntamente con la raíz.^{97,99} Las fibras de Sharpey conforman la mayor parte de su estructura y se insertan en la superficie de la raíz en ángulos casi rectos, penetrando en la profundidad del cemento. La abundancia de fibras del ligamento periodontal insertadas en este cemento, aproximadamente 30.000 fibras/mm²,^{88,95} indica que es muy importante en la unión del diente y su tamaño, número y distribución van aumentando con la función. El grado de mineralización es de un 45-65% pero las capas más internas se caracterizan por alternar bandas más o menos mineralizadas que se disponen paralelamente a la raíz.⁹¹

El cemento celular, se forma después de la erupción dental, y en respuesta a demandas funcionales. Este suele cubrir el tercio apical de la raíz y furca. Las fibras de Sharpey, las cuales ocupan una porción menor del cemento celular, se separan de otras que se distribuyen paralelas a la superficie del diente o dispuestas al azar, aparecen en el tejido que cubre las áreas reabsorbidas de la superficie radicular y en las fracturas de raíz. Su composición de colágeno, su rápida velocidad de producción y la presencia de células hacen que este tipo de cemento este menos mineralizado.⁹¹

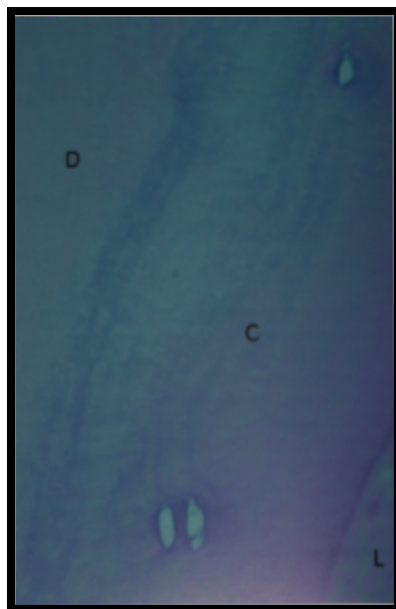


Figura 8. Cemento celular. Tomada de Llamas Cadaval R. y cols.¹⁰⁰

El cemento celular humano forma un cemento mixto celular estratificado que está constituido por capas alternas de cemento acelular junto con fibras extrínsecas, cemento acelular con fibras intrínsecas, y cemento celular con fibras intrínsecas. La denominación de laminar se debe a la presencia de franjas hipermineralizadas que alternan con otras hipomineralizadas.

Existe también el cemento intermedio, que se trata de una zona mal definida cerca de la unión cemento-dentinaria de algunos dientes, y que contiene restos celulares de la vaina epitelial de Hertwig incluidos en la sustancia básica calcificada. Se trata de la capa hialina de Hopewell-Smith. Esta capa se encuentra hipercalcificada respecto a la dentina y al cemento adyacente.¹⁰¹

1.1.4.1.3. Embriología

Al realizar el examen histológico del periodonto sano, se observa que existen varios

tipos de células mesenquimales y células hijas derivadas de estas que son reguladoras de la cementogénesis, entre estas están los fibroblastos del ligamento periodontal, osteoblastos y células progenitoras asociadas, cementoblastos de la superficie radicular y células perivasculares con características de células.^{91,102,103,}

Las células ectomesenquimales, las células foliculares y las células de la papila dental, tienen la capacidad para actuar como cementoblastos, fibroblastos del ligamento u osteoblastos.^{104,105} El tipo celular específico que funciona como cementoblasto, durante el mantenimiento del periodonto, aún permanece desconocido.^{86,87,106} Algunos consideran que existen células progenitoras en el ligamento periodontal maduro capaces de funcionar fenotípicamente como osteoblastos o cementoblastos, formando hueso o cemento.^{91,102,103} Existen otros autores que relacionan las células del ligamento periodontal con la inhibición de la mineralización del cemento. El cemento acelular se formará conjuntamente con el desarrollo de la raíz y la erupción del diente.¹⁰⁷

La vaina epitelial de Hertwig, derivada de células del órgano del esmalte, prolifera apicalmente induciendo a las células situadas en la periferia de la papila dental a diferenciarse en odontoblastos, los cuales segregan la matriz orgánica de la dentina radicular.^{108,109}

En dientes humanos, la formación del cemento acelular de fibras extrínsecas es a lo largo de esta matriz de dentina aún no mineralizada, pues esta zona se poblará de células basófilas, semejantes a fibroblastos, que producen e insertan fibrillas de colágeno a la matriz dentinaria no mineralizada, perpendicularmente a la superficie radicular.

En los roedores son las células ectomesenquimatosas del saco dentario las que al contactar con la superficie de la dentina aumentan de tamaño y se diferencian en cementoblastos, a diferencia que en los humanos. En efecto, en los roedores, según comienza a mineralizarse la dentina, se interrumpe la fuente de nutrición de las células epiteliales, proveniente de la papila, por lo que la vaina epitelial se fragmenta formando una red fenestrada.^{101,110} Tras la fenestración, las células ectomesenquimatosas del saco dentario se insinúan entre las células epiteliales y contactan con la superficie de la dentina. Estas células aumentan de tamaño y se diferencian en células formadoras del cemento o cementoblastos. Constituirán una matriz orgánica y sustancia fundamental que se mineraliza. A medida que esto avanza, los cementoblastos se van desplazando alejándose del límite cementodentinario. Entre los cementoblastos y la línea frontal de mineralización permanece una delgada franja de material cementoide.

La génesis del cemento acelular de fibras extrínsecas en humanos se caracteriza por un

lento desarrollo prefuncional, nada indica un movimiento de células del saco dentario hacia la dentina. Se ha sugerido que las células productoras de cemento humano tengan su origen en una transformación epitelio-mesenquimatoso de las células de la vaina de Hertwig.^{95,102,111}

Se ha sugerido también que algunas proteínas de la matriz extracelular como la sialoproteína y la osteopontina, factores de crecimiento, proteínas del esmalte y moléculas de adhesión intervengan en la cementogénesis.^{112,113}

Tal y como ya se ha descrito anteriormente, debido a la lentitud con la que se realiza todo el proceso, los cementoblastos retroceden, y no quedan incluidos en la matriz mineralizada y de ahí, que el cemento primario sea un cemento acelular.

El cemento celular humano forma un cemento mixto celular estratificado que consiste en capas alternas de cemento acelular de fibras extrínsecas, cemento acelular de fibras intrínsecas, y cemento celular de fibras intrínsecas.

La formación del cemento celular de fibras intrínsecas comienza cuando el diente entra en oclusión, pero es una simple coincidencia con este hecho, ya se sugirió que la masticación no es una condición imprescindible para la aposición de este tipo de cemento.

Existen grandes células basófilas ocupando el espacio entre la capa externa de la vaina epitelial de Hertwig y la superficie radicular. Estas son designadas como cementoblastos, basándose en sus características morfológicas típicas de células sintetizadoras de proteínas y su localización.¹⁰⁶

En la cementogénesis celular inicial existen dos modos diferentes de producción de la matriz del cemento: la producción multipolar, que es una forma rápida de producción de cemento que da como resultado el cemento celular de fibras intrínsecas, formando haces poco densos, donde poco a poco los cementoblastos quedarán incorporados, alojados en lagunas (denominándose ahora cementocitos), y la unipolar, forma lenta que da como resultado el cemento acelular de fibras intrínsecas, que no tiene ningún cementocito y consiste en haces de fibrillas de colágeno muy densos, paralelos a la superficie radicular. Estos tipos de cementos no contienen ninguna fibra de Sharpey.¹¹⁴

La aposición del cemento se realiza en fases en muchos mamíferos, dando como resultado dos tipos de capas: líneas estrechas, oscuras, separadas de bandas más anchas y pálidas. La distancia de una a otra línea representa el depósito anual de cemento, y su contabilización se ha usado para la estimar las edades de los animales y también en humanos.^{115,116}

En el cemento celular del diente humano cuando la raíz está completamente formada,

también se puede observar una estructura estratificada del mismo, patente por la existencia de líneas incrementales que son líneas oscuras muy finas que delimitan zonas más claras y anchas, todas paralelas a la superficie radicular.¹¹⁷

Si nos basamos en su forma, los cementoblastos observados pueden clasificarse en dos tipos: unos tienen un aspecto liso, regular; mientras que los otros muestran un aspecto rugoso, con diversas prolongaciones. Los cementoblastos lisos recubren el cemento, las fibras intrínsecas del cemento se depositan longitudinalmente, dando lugar a las bandas claras de la superficie radicular. Donde aparecen cementoblastos de aspecto rugoso, irregular, las fibras se orientan perpendicularmente a la raíz, formando líneas oscuras. Posteriormente algunos de estos cementoblastos quedarán incluidos en la matriz mineralizada denominándose ahora cementocitos.¹¹⁸

Con la aposición del cemento, las fibras colágenas producidas por los fibroblastos del ligamento periodontal en formación van quedando incluidas en él, constituyendo las fibras extrínsecas del cemento o fibras perforantes, que se insertan en ángulo recto respecto a la superficie radicular. Las fibras extrínsecas suelen estar envueltas por otras fibras de recorrido helicoidal.

Existen otras fibras dispuestas en distintas direcciones; comienza así el desarrollo del cemento celular estratificado mixto, que continúa a lo largo de toda la vida.¹¹⁸

1.1.4.1.4. Funciones.

El cemento radicular ejerce diversas funciones: sirve de superficie de unión de las fibras del ligamento periodontal a la superficie radicular, mantiene la anchura del espacio ocupado por el ligamento periodontal, protegen y reparan la superficie radicular en casos de lesión. Y existe una cuarta función que es la de compensar el desgaste del diente por la atrición para que el diente se mantenga en el plano de oclusión.^{84,119}

Entre las funciones más importantes del cemento, está la de mantener la inserción del diente, esta función se realiza por la presencia de las fibras extrínsecas que llegan al ligamento periodontal desde el cemento y las que se prolongan desde la raíz hasta el hueso alveolar. El cemento suministra el medio de anclaje a las fibras colágenas que fijan el diente al hueso alveolar constituyendo la articulación alveolodentaria.

El cemento celular de fibras intrínsecas como no alcanza el ligamento no participa en esta función.¹¹⁹

El cemento va a participar en la transmisión de las fuerzas oclusales, producidas durante la masticación, al ligamento periodontal. Las fuerzas oclusales producen

modificaciones en su estructura y estimulan la producción de cemento en el tercio apical. Además mantiene la inserción de las fibras periodontales durante el movimiento dentario manteniendo el equilibrio de las fuerzas oclusales, sin embargo, hay cierta controversia en cuanto a la acción estimuladora o inhibidora de las fuerzas oclusales sobre el cemento. Se sabe que las fuerzas oclusales excesivas pueden provocar la reabsorción del cemento. Por lo que es fundamental mantener la integridad entre todos los componentes del periodonto, cemento, ligamento y hueso, para mantener el equilibrio entre la formación y reabsorción que se produce para adaptar el diente a los requerimientos funcionales.¹⁰⁶

El cemento compensa los fenómenos de desgaste dentario debidos a la masticación y a la edad. Para compensar el desgaste oclusal e incisal del esmalte e inclusive de la dentina, se produce cementogénesis en el ápice radicular y en la zona de la furca, esto proceso mantiene el plano oclusal de forma adecuada.¹⁰⁶

El cemento puede reparar los pequeños defectos que se producen con los movimientos dentarios, a pesar de ser menos afectados por los procesos de reabsorción que el hueso alveolar. Además, si el periodonto está sano, pueden repararse los defectos por reabsorción tras tratamientos de ortodoncia o tras las fracturas de la raíz. Estas localizaciones lesionadas pueden ser recubiertas nuevamente por cemento celular, permitiendo que las funciones normales queden restablecidas, las fibras reinsertadas, la lámina dura ininterrumpida y el tejido óseo regenerado.^{102,106}

El cemento acelular, a diferencia que el anterior, no es capaz de reaccionar ante ningún tipo de estímulo mecánico.¹²⁰

El cemento es el lugar donde la inserción ha de ser restablecida y en la matriz del cemento existen diversos factores de crecimiento y proteínas no colagénicas que estimulan a los distintos tipos de células periodontales, regulando la regeneración periodontal.^{87,91,121}

El cemento además protege a la pulpa dentaria.

1.1.4.1.5. Barreras contra la reabsorción del cemento.

Ambos, el cemento y el hueso son susceptibles de padecer reabsorción radicular bajo fuerzas ortodóncicas, a pesar de que el cemento tenga una gran resistencia a la reabsorción.^{122,123}

El cemento, no está involucrado en el proceso metabólico de la homeostasis del calcio, mientras que el hueso sí.¹²⁴

El cemento, se trata de un tejido mineralizado que normalmente no libera minerales bajo condiciones fisiológicas. Y no está vascularizado, mientras que el hueso sí.

Las anastomosis y canalículos entre cementocitos y el ligamento periodontal son escasos, esto da lugar a que el cemento sea menos sensible a su entorno que el tejido óseo.¹²⁵

La zona del ligamento periodontal que contacta con el cemento contiene menos vasos sanguíneos que la zona que contacta con el hueso.

No se suelen encontrar los odontoclastos en el cemento bajo condiciones fisiológicas normales, mientras que los osteoclastos forman parte de la estructura ósea normal.

La capa cementoide (precemento no mineralizada) es de unas 3 a 5µm de espesor en cemento acelular y más grueso en cemento celular. Esta capa siempre está presente debido a que se deposita continuamente. Esta capa no mineralizada no representa un sustrato susceptible de adhesión y reabsorción por lo general por los odontoclastos y por tanto desempeña un papel fundamental en la protección frente al proceso de reabsorción.^{80,126}

1.1.4.2. Dentina

La dentina es el tejido predominante en el diente, proviene del Mesodermo, de la zona periférica de la papila dental. Se localiza entre el esmalte y la pulpa en la región coronal y entre el cemento y la pulpa en la región radicular. El espesor es variable en función de la pieza dentaria, suele ser mayor en los bordes incisales o cuspídeos y menor en la raíz.⁹²

La dentina es la parte dura del complejo dentino pulpar. Constituida más o menos por un 70% de materia inorgánica, un 18% de materia orgánica y un 12% de agua. Su componente inorgánico consiste sobretodo en hidroxipatita y además contiene fosfato de calcio amorfo y diferentes sales minerales como carbonatos y sulfatos. La matriz orgánica está constituida por colágeno de tipo I y tipo III con fracciones de glicoproteínas, fosfoproteínas proteoglicanos (condroitinsulfato, dermatansulfato y ácido hialurónico). Estas sustancias intervienen junto con la fosfatasa alcalina en la precipitación de minerales sobre la trama orgánica. La matriz inorgánica hace que la dentina sea más dura que el hueso y el cemento, pero menos dura que el esmalte. Los valores promedios de la microdureza de la dentina en dientes permanentes está alrededor de 0,57 y 1,13 GPa. Más o menos el 56% de la matriz mineral se localiza entre el colágeno. La dentina si está en estado sano tiene un color blanco amarillento con una amplia gama de tonalidades variando según la edad del individuo, el grado de mineralización, la vitalidad pulpar y los pigmentos que se adquieren durante toda la vida. La dentina físicamente provee flexibilidad y prevé la fractura del esmalte debido a las propiedades elásticas que presenta.

Su módulo de elasticidad varía entre 17,2 y 22,9 GPa.⁹²

1.1.4.2.1. Anatomía dentinaria

La dentina está constituida por túbulos que contienen la extensión citoplasmática del odontoblasto. Los túbulos le dan a la dentina la característica de permeabilidad.¹²⁷⁻¹³⁰

Histológicamente la dentina está formada por unidades estructurales básicas, túbulos dentinarios, dentina intertubular y unidades estructurales secundarias, constituido por la dentina tubular, la dentina interglobular, la dentina esclerótica, las líneas incrementales de crecimiento o bandas de Owen y la zona granular de Tomes.^{131,132}

Los túbulos dentinarios se encuentran por toda la extensión y grosor de la dentina, desde la unión amelo dentinaria hasta la pulpa. Su longitud promedio varía entre 1,5 y 2 mm. Los túbulos próximos a la pulpa miden aproximadamente 2,5µm, en la porción intermedia 1,2µm y 900nm cerca de la unión amelodentinaria, existe una mayor densidad cuanto mayor sea la cercanía a la pulpa. El número oscila entre 59.000 y 76.000 por milímetro cuadrado cerca de la pulpa mientras que en las proximidades del esmalte, el número se disminuye al menos la mitad. Se ha descrito la presencia de megalotúbulos en ciertas áreas de la dentina que incrementan localmente la permeabilidad. Tienen entre 5 y 50 µm de diámetro y se encuentran sobretodo en la dentina coronaria en la zona de los cuernos pulpares, cuyo origen y significado funcional se desconoce.^{92,133}

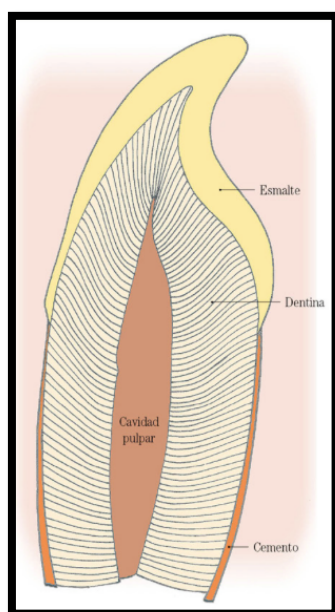


Figura 9. Recorrido de los túbulos dentinarios. Modificada de Gómez de Ferraris y cols.¹³⁴

El recorrido de los túbulos corresponde al desplazamiento realizado por el odontoblasto durante la elaboración de la dentina. Este recorrido no es recto sino con presencia de curvas. Se pueden distinguir dos tipos de curvas. Las curvas primarias son amplias y realizan una doble curvatura en S itálica en la región coronaria y una sola en la región radicular. Las curvaturas secundarias son muy pequeñas, numerosas y están a lo largo de todo el trayecto del túbulo. Corresponden a las manifestaciones en espiral que realizan los odontoblastos durante la dentinogénesis. Se pueden encontrar ramas mayores (con 500 a 1000µm de diámetro), finas (300 a 700µm) y micro (300µm). Las ramas mayores representan las ramas terminales de los túbulos y suelen ser más frecuentes en la dentina radicular. Las ramas finas o colaterales emergen de los túbulos con un ángulo de 45 grados en intervalos de 1-2µm, suelen ser más abundantes en la dentina radicular donde la densidad de los túbulos es menor. Existen también ramificaciones de los túbulos dentinales que se anastomosan con otros túbulos, éstos se extienden en ángulo recto desde un túbulo dentinal hacia otro.^{128,133}

Debido a la presión pulpar, que es aproximadamente alrededor de unos 10mmHg, los túbulos dentinales están constantemente llenos de un fluido tisular originado por la pulpa dónde se localizan generalmente el proceso odontoblástico. Este líquido es rico en sodio y con escasez de potasio. Ocupa los espacios libres entre la pared y el odontoblasto. El volumen del líquido tisular corresponde más o menos a 10% del volumen de la dentina. Este líquido tiene un flujo lento pero continuo. Por este motivo la humedad es un factor constante en la dentina.⁹²

Los procesos odontoblásticos también son conocidos como la fibrilla de Tomes. Se trata de una prolongación del citoplasma del odontoblasto que se origina en la pulpa y penetra en la dentina. Estos procesos odontoblásticos son más anchos en su base y terminan prácticamente en punta afilada, sus ramas laterales ocupan las ramificaciones de los túbulos dentinarios.⁹² Cada fibrilla tiene a su vez ramificaciones laterales de diferente tamaño y grosor.

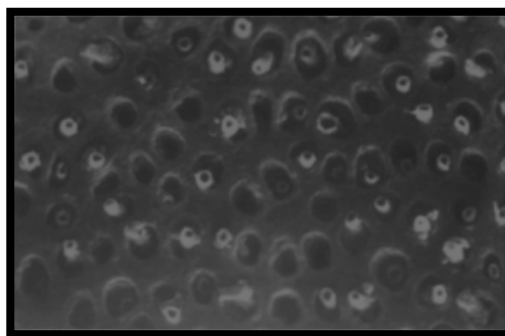


Figura 10. Túbulos dentinarios con prolongaciones de los dentinoblastos en su interior. Tomada de Llamas Cadaval y cols.¹⁰⁰

La dentina intertubular se encuentra localizada entre los túbulos dentales. Representa la secreción primaria de los odontoblastos y constituye una red de fibras colágenas tipo 1 midiendo entre 50 y 200nm en diámetro, en donde se han depositado cristales de hidroxipatita. Esta red se encuentra sumergida en la sustancia fundamental. La sustancia fundamental consta de dos partes, una parte fibrilar y otra mineral. La parte fibrilar está constituida en su mayoría por colágeno y otros tipos de fibras menos numerosas. Las fibras van en los tres sentidos del espacio, pero en su mayoría están perpendiculares a los túbulos dentinarios.¹²⁸

El componente mineral está constituido principalmente por cristales de hidroxipatita y fosfato de calcio. Los cristales se muestran casi siempre en forma de aguja con 5nm de diámetro y hasta 100nm de longitud. Se localizan entre las fibras colágenas sin una orientación determinada. La sustancia fundamental además contiene fosfoproteínas, proteoglycanos, proteínas, glicoproteínas y proteínas plasmáticas.

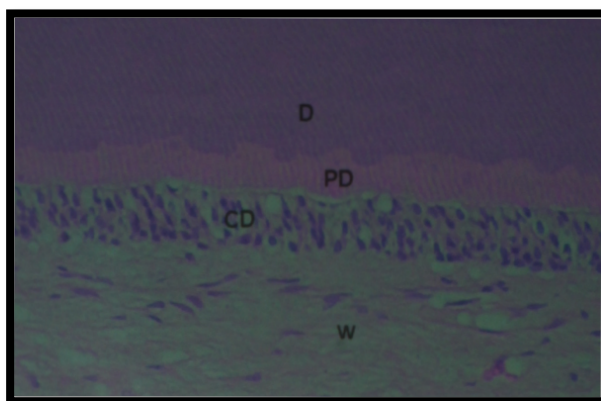


Figura 11. Complejo dentinopulpar. D:dentina; PD:predentina; CD: capa de dentinoblastos; W: capa de Well. Tomada de Llamas Cadaval y cols.¹⁰⁰

Entre las unidades estructurales secundarias de la dentina encontramos a la dentina tubular, la cual en el inicio se llamaba dentina peritubular, pero este término es incorrecto anatómicamente, ya que la dentina se forma dentro del túbulo no alrededor. Esta matriz peritubular se forma en la luz de los túbulos dentinarios, entre la dentina intertubular y el proceso odontoblástico. Su formación comienza una vez que la matriz intertubular está alejada de la predentina, aproximadamente a 100µm. Esta matriz se deposita lentamente y de forma progresiva, disminuyendo la luz del túbulo. La matriz está constituida por delgadas fibras colágenas agrupadas en haces y está formada por mayor cantidad de elementos minerales que la dentina intertubular. Encontramos ocasionalmente colágeno tipo III. La dentina tubular es la que provoca que los túbulos se estrechen a medida que se

alejan de la pulpa. Si se realizan cortes histológicos, se ve como un anillo hipermineralizado de dentina. Esta capa de dentina presenta 3 capas, la franja hipermineralizada externa, la cual se trata de una interfase de menor mineralización entre la dentina peritubular y la dentina intertubular. Antes se la denominaba vaina de Neumann. La porción siguiente es una capa media mineralizada que es la que tiene mayor espesor y el más alto grado de mineralización y la franja hipomineralizada interna que es la última zona que se forma por ello está menos mineralizada que el resto.¹³⁵

La dentina interglobular es también conocida como espacios de Czermak. Describen las áreas de hipomineralización en donde hay zonas globulares de mineralización que han fallado de unirse homogéneamente con la dentina madura. Se trata de una estructura dentinaria en la cual se ha afectado la mineralización pero se mantiene la misma estructura orgánica que en el resto de la dentina. Esto se ve sobretodo en personas con faltas de vitamina D o exposición a altos niveles de flúor durante la formación de la dentina o proceso dentinogénesis. Son zonas que se encuentran limitadas por bordes convexos, localizados preferentemente en la periferia de la dentina coronaria. Su tamaño varía entre 150µm y 300µm. Esta dentina carece de dentina peritubular y los procesos odontoblásticos mantienen sus diámetros sin estrecharse nunca.¹²⁸

La dentina esclerótica a diferencia de los descritos anteriormente, hace referencia a los túbulos dentinarios que han sido sellados por material calcificante. Cuando sucede esto, la dentina toma una apariencia vidriosa. La cantidad de dentina esclerótica va aumentando con la edad y siendo más común en el tercio apical de la raíz. En ocasiones puede ser debida a un estímulo suave y persistente. Este taponamiento comienza a los 18 años y no se ha podido encontrar alguna influencia externa por lo que se piensa que sucede cuando se deposita mucha dentina intratubular. Existen algunos otros motivos para la presencia de dentina esclerótica, como la deposición de mineral dentro del túbulo sin que sea formación de dentina intratubular, o una mineralización del proceso odontoblástico y de su contenido tubular (fibras colágenas).¹²⁸

La dentinogénesis se produce rítmicamente, combinándose fases de debilidad y de actividad en la que se deposita estratos sucesivos de minerales que se unen entre sí. Cada estrato puede variar del de sus adyacentes. Estas fases están representadas por líneas que no siempre son detectables. Normalmente se encuentran en ángulo recto con los túbulos y constituyen las llamadas líneas incrementales de crecimiento o bandas de Owen.¹³⁰ Las

líneas incrementales de Owen representan a la superficie pulpar de la dentina durante los estadios de la dentinogénesis. Se trata de depósitos menos mineralizado que el de los adyacentes. La línea de contorno más prominente es la línea neonatal la cual se produce durante el periodo del nacimiento, cesando una vez que el lactante se acostumbre al nuevo ambiente. Los periodos de desnutrición o periodos febriles fuertes quedan marcados como líneas de contorno acentuadas.⁹²

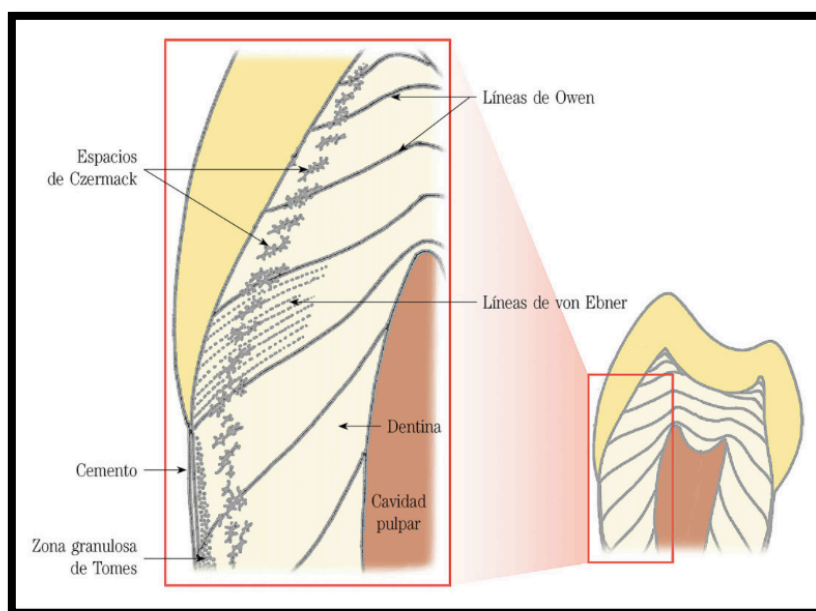


Figura 12. Imagen en la cual se muestra las líneas de Owen, líneas de von Ebner, espacios de Czermak, zona granular de Tomes, cemento, dentina y cavidad pulpar. Tomada de:

<http://4.bp.blogspot.com/-2K2CqzprU30/T3jaZ43ZN6I/AAAAAAAAAEs/DpFm3sm3w8M/s1600/C11-fig13.jpg>¹³⁶

Las líneas de Von Ebner se corresponden con la formación de la dentina que es aproximadamente de 4 a 8 μm . Son similares a las estriaciones transversales del esmalte. El trayecto de estas líneas es generalmente perpendicular al de los túbulos dentinarios.

Se denomina Bandas de Schreger cuando en los cortes por desgaste, la dentina presenta lugares en los que la luz se refleja diferente al de las zonas vecinas. Esto representa los cambios en la dirección de los conductillos dentinarios en las zonas de las curvaturas primarias.¹²⁸

Y por último, entre las unidades estructurales secundarias de la dentina encontramos la zona granular de Tomes. Se encuentra localizada en la zona periférica de la dentina radicular. Se presenta como espacios de unas 50 μm y se corresponde con la presencia de zonas no mineralizadas en las que sólo se presenta la trama orgánica.¹²⁸

1.1.4.2.2. Zonas de la dentina.

En la dentina podemos distinguir la zona del manto, la zona circumpulpar y la zona de predentina.

La zona del manto es la capa más externa que se forma inmediatamente por dentro del esmalte o del cemento. Su espesor es más o menos 20 μm . Está menos mineralizado que la zona circumpulpar debido a la presencia de gruesos haces de colágeno. Está formada por una malla de fibra colágenas de unas 2 μm de diámetro paralelas entre sí y con una orientación perpendicular a la superficie externa de la dentina. Esta capa está constituida por un número alto de túbulos debido a que contiene las ramificaciones terminales de los mismos.⁹²

Mientras que la zona circumpulpar corresponde al resto de dentina mineralizada y se extiende desde la zona del manto hasta la predentina. Constituida por dos tipos de fibras en la que predominan las fibrillas delgadas que se encuentran distribuidas en forma irregular.

La zona de predentina es zona de tejido dentinario en la cual no se ha realizado la precipitación mineral. Tiene alrededor de 20 a 30 μm de ancho. Está formada por una matriz orgánica dentinaria muy rica en componentes azufrados. A su vez está compuesta por 3 capas: la capa yuxtapulpar que corresponde a la franja ubicada entre los odontoblastos y el lugar donde se origina el proceso odontoblástico. La predentina Joven, que contienen una rica malla de fibras de naturaleza colágena. Se orientan en diferentes direcciones y constituyen espacios poligonales alrededor de los procesos. Se aloja aquí la sustancia fundamental amorfa. Y la predentina madura, la cual corresponde al estadio anterior a que se produzca la precipitación de minerales. La presencia de esta zona constituye una fuente constante en la producción de dentina.⁹²

1.1.4.2.3. Clasificación de los tipos de dentina.

La dentina la podemos clasificar en dentina primaria, dentina secundaria y dentina terciaria.

La dentina primaria es la más abundante. Se encuentra localizada alrededor de la pulpa. Es considerada desde el inicio de la dentinogénesis hasta el momento en el que el diente entra en oclusión.^{128,137}

La dentina secundaria se desarrolla tras la formación del diente y se forma por dentro de la dentina primaria. Se pensaba que la dentina secundaria se desarrollaba solamente después de la erupción cuando el diente comenzaba a ser sometido a las fuerzas masticatorias. Hoy en día se sabe que la dentina secundaria es formada por los odontoblastos de forma más lenta, una vez que la raíz ya se ha formado. La dentinogénesis continúa toda la vida aunque con un ritmo cada vez más lento. Este tipo de dentina contiene túbulos más desordenados que la dentina primaria. En el tercio apical de la raíz encontramos solamente dentina secundaria.¹³⁷

El límite entre la dentina primaria y la secundaria se da por un brusco cambio de dirección de los túbulos dentinarios.



Figura 13. Imagen histológica de dentina primaria y secundaria.

Tomada de <http://www.fotosimágenes.org/dentina>¹³⁸

Y la dentina terciaria también se conoce como dentina reactiva, reparadora o dentina secundaria irregular. Se produce en reacción a varios estímulos, como caries o procedimientos restauradores. Esta dentina se produce solamente en los lugares donde las células han sido afectadas por algún estímulo. La calidad y la cantidad están directamente relacionadas con la intensidad y la duración del estímulo. Se caracteriza por presentar túbulos de recorrido irregular y cuyo número está muy disminuido y hasta ausentes. La estructura es más irregular y algunos odontoblastos que participan en la elaboración de esta dentina, pueden quedar atrapados en la estructura de la misma. Estos degeneran y mueren dentro de la cavidad que los aloja. La dentina reaccional disminuye el volumen de la cavidad pulpar.^{128,137}

1.1.4.3. Ligamento periodontal

El ligamento periodontal se trata de un tejido conectivo especializado, localizado entre el cemento que cubre la raíz dentaria y el hueso alveolar. Su anchura varía entre 150 y 380µm, correspondiendo la zona más estrecha a la zona del tercio medio de la raíz.^{91,139}

En general, su espesor disminuye progresivamente con la edad y la disminución de función del diente.

1.1.4.3.1. Estructura

El ligamento periodontal en un 60% está constituido por haces de fibras colágenas que discurren entre el cemento y la lámina cribosa del hueso alveolar. Estas fibras son las encargadas de regular la posición del diente en el alvéolo.⁹¹

Cada una de las fibras muestra ondulaciones en su trayectoria que desaparecen bajo el efecto de la tensión, permitiendo el aparente alargamiento de la fibra. Se disponen en 5 grupos distintos según sea su dirección (Tabla 2). A estos grupos de fibras con dirección definida, que se insertan en hueso y cemento se les denomina fibras principales. El grupo crestal o cresto-dental, se extiende en dirección apical y oblicua desde el cemento, por debajo de la unión cemento-adamantina, hasta la cresta alveolar. El grupo horizontal está formado por haces perpendiculares al eje longitudinal del diente, desde el cemento al hueso justo por debajo de la cresta alveolar. Su función es la de regular los desplazamientos laterales. El grupo oblicuo es el grupo más extenso del ligamento. Se extiende en dirección coronal y oblicua desde el cemento al hueso. Son los que resisten el empuje de las fuerzas masticatorias. El cuarto grupo corresponde al grupo interradicular, este sólo se halla entre las raíces de los dientes multirradiculares. Va desde el cemento al hueso que forma la cresta del septum interradicular. Y por último el grupo apical, el cual se extiende desde el cemento alrededor del ápice radicular, hasta el hueso que forma la base del alveolo. Impiden los grandes desplazamientos laterales a nivel apical y la extrusión vertical.¹³²

Tabla 2. Grupos de fibras del ligamento periodontal y su disposición.

GRUPOS DE FIBRAS DEL LIGAMENTO PERIODONTAL	DISPOSICIÓN
Cresta alveolar	Del cuello hasta la cresta alveolar
Horizontal	Horizontalmente, de diente a hueso alveolar
Oblicuo	Oblicuamente, de cemento a hueso alveolar
Apical	De ápice del diente a hueso alveolar
Interradicular	Entre las raíces de dientes multirradicales

El espacio indiferenciado de Black se encuentra a nivel del foramen apical. Se trata de una zona que sólo presenta delgadas fibrillas distribuidas irregularmente, sin formar haces, por donde pasan los vasos y nervios destinados a la pulpa.¹⁴⁰

Las fibras de Sharpey son los extremos terminales de las fibras colágenas principales del ligamento periodontal, los cuales se insertan en cemento y hueso. En ocasiones las fibras de Sharpey pasan sin interrupción a través del hueso alveolar para continuar como fibras principales de un ligamento periodontal adyacente, o pueden mezclarse con las fibras del periostio que cubren las tablas corticales externas del proceso alveolar.^{141,142}



Figura 14. Representación histológica de la cresta alveolar, dentina, ligamento periodontal y cemento. Tomada de Gómez de Ferraris y cols.¹⁴²

1.1.4.3.2. Composición

Es un tejido muy fibroso con un alto poder de renovación¹⁴³ y a semejanza que otros tejidos conectivos, está constituido por células (osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos, restos epiteliales de Malassez, monocitos y macrófagos, células mesenquimales indiferenciadas, cementoblastos y odontoblastos) y un componente extracelular compuesto por una matriz de fibras de colágeno y otras, rodeadas a su vez, de vasos y nervios.

Los fibroblastos representan uno de los principales componentes celulares del ligamento periodontal. Presentan extensas prolongaciones que envuelven los haces de fibras. Son los responsables del constante recambio de los constituyentes del ligamento periodontal, ya que sintetizan y degradan el colágeno.⁹¹

Los osteoblastos y osteoclastos ocupan la superficie del ligamento periodontal adyacente al hueso.

Los cementoblastos y cementoclastos se encuentran en la superficie del ligamento periodontal adyacente al diente.¹⁴¹

Las células epiteliales remanentes de la vaina epitelial de Hertwig se conocen como restos epiteliales de Malassez. Se localizan próximos al cemento como agrupaciones celulares y son más abundantes en las zonas próximas a la furca. Contribuyen a la formación de quistes y pueden estar relacionada con los procesos de reparación/regeneración.¹⁴⁰

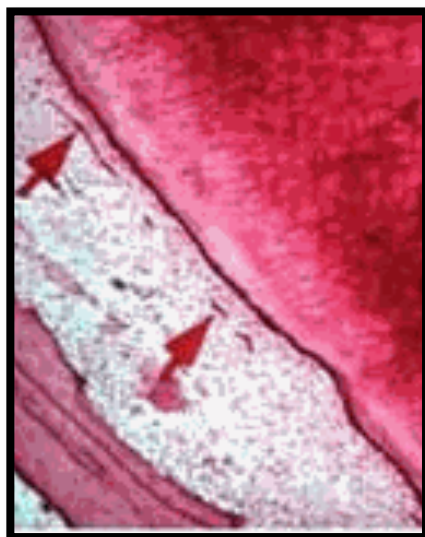


Figura 15. Restos epiteliales de Malassez rodeando la raíz del diente por largo periodos de tiempo. Tinción de Hematoxilina-Eosina. Tomada de <http://www.monografias.com/trabajos55/ligamento-periodontal/ligamento-periodontal2.shtml>¹⁴⁴

Entre los componentes celulares más importantes del ligamento están las células mesenquimales indiferenciadas, las cuales son células pequeñas que pueden diferenciarse en cualquier célula de tejido conectivo que se encuentre en el ligamento periodontal. Son células progenitoras de cementoblastos y odontoblastos.^{102,141} Se encuentran localizadas alrededor de los vasos, son primordiales durante la reparación / regeneración y algunas de ellas han sido caracterizadas como células Stem.^{88,145}

El componente fibroso mayoritario del ligamento periodontal es el colágeno, colágeno de tipo I y III, además del tipo XII. Las principales fibras atraviesan el espacio periodontal y se insertan dentro del cemento y en la superficie del hueso como fibras de Sharpey.⁹¹

Existen tres tipos de fibras elásticas posibles, elastina, oxitalán y elaunina, de las cuales sólo se han encontrado fibras de oxitalán. Estas corren dispuestas generalmente en dirección perpendicular al plano oclusal del diente, desde la superficie del cemento hasta el ápice alrededor del pedículo vasculonervioso. Por ello se han implicado en la regulación del flujo sanguíneo, al ser fibras elásticas pueden responder a las variaciones de tensión en las paredes de los vasos.⁹¹

Se ha descrito la presencia de otras proteínas no colagénicas, proteoglicanos,¹⁴⁶ glicoproteínas como insulina, tenascina y fibronectina,¹⁴⁷ y fosfatasa alcalina.¹⁴⁸

La sustancia fundamental está formada principalmente por agua (70%) donde encontramos además glucosaminoglicanos, proteoglicanos y glucoproteínas.

1.1.4.3.3. Funciones

El ligamento periodontal es el tejido de fijación entre el diente y el hueso alveolar, y es el responsable de resistir las fuerzas de desplazamiento (mecanismo de sostén del diente) y de proteger los tejidos dentales de las lesiones causadas por las cargas oclusales.

Además es el responsable de los mecanismos por los que el diente alcanza y mantiene su posición funcional. Estos mecanismos son los de erupción, sostén (especialmente la respuesta de recuperación después de una carga) y movimiento.

El ligamento periodontal es un tejido conjuntivo que se encuentra perfectamente adaptado a su principal función que es la de soportar el diente y fijarlo a la cavidad alveolar al mismo tiempo que contrarresta las fuerzas de la masticación. Además interviene en el control neurológico de la masticación, para ello posee mecanorreceptores que actúan detectando la posición de la mandíbula durante la masticación para controlar la fuerza de mordida en el cierre mandibular.

El ligamento periodontal tiene una gran capacidad metabólica, constituido por una

trama conjuntiva sumamente irrigada e inervada, la cual le permite seguir formando cemento y cortical alveolar después de la entrada del diente en oclusión. Las células del ligamento periodontal son responsables de la osteogénesis y osteoclasia, fibrogénesis y fibroplasia, cementogénesis y cementoclasia.¹⁴⁹

En el ligamento además existe un inhibidor de la actividad proteolítica que juega un papel en el mantenimiento de la integridad de la raíz, así Melcher y Turnbull,¹⁵⁰ comprobaron que células vitales del ligamento inhibían la invasión de células asociadas al hueso, mientras que la ausencia de células periodontales sanas permitían la invasión de células óseas.

Por interacciones entre las células óseas y las del tejido conectivo del ligamento, se establecen uniones que mantienen el espacio del ligamento periodontal. La inflamación, trauma o la estimulación mecánica pueden influir en estas uniones, dando lugar a el ensanchamiento, estrechamiento o incluso la desaparición del ligamento.¹⁵¹

En el ligamento periodontal hay células que se encargan de mantener la homeostasis tisular y que son responsables de la reparación y regeneración del periodonto. El ligamento periodontal contiene células Stem, las cuales mantienen su potencial para diferenciarse a osteoblastos, cementoblastos y fibroblastos.^{103,152}

Además las células del ligamento tienen la capacidad de secretar moléculas que pueden regular la mineralización y prevenir la fusión del cemento y el hueso alveolar, es decir, de prevenir la anquilosis del diente.^{91,153,154}

1.1.4.4. Hueso alveolar

1.1.4.4.1. Composición, estructura ósea y funciones

El hueso es un tipo de tejido conectivo que permite el soporte de nuestro cuerpo y actúa protegiendo a los órganos vitales. Está compuesto por 60% componentes minerales, 30% componentes orgánicos y un 10% de agua.⁹¹ Presenta un alto contenido mineral, principalmente de calcio y fósforo, por ello es fundamental en el proceso de homeostasis del calcio.

Los huesos suelen estar compuestos por una capa externa de hueso compacto rodeando a un hueso trabecular interno. El hueso compacto es más denso y menos activo metabólicamente al compararlo con el hueso trabecular esponjoso.⁹¹

En el inicio, cuando el hueso se deposita, constituye un hueso desorganizado, conocido como hueso reticular. Aparece de forma temprana en el feto y tras la curación de una fractura, y posteriormente es sustituido por hueso laminar, constituyendo una forma organizada de hueso con fibras colágenas alineadas depositadas de forma concéntrica.

El proceso de remodelado óseo representa el equilibrio entre la reabsorción ósea y el depósito de nuevo hueso para mantener el volumen y la salud del tejido óseo existente.⁹¹

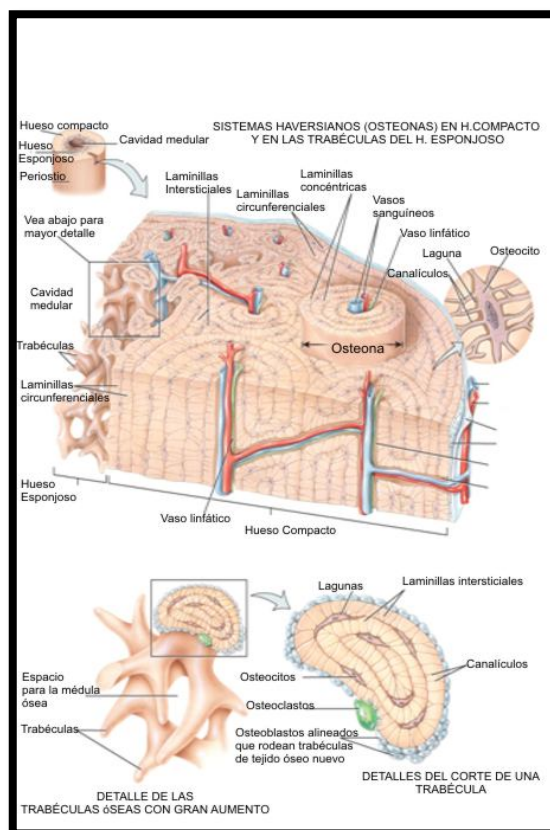


Figura 16. Sistemas Haversianos, osteona en hueso compacto y en las trabéculas del hueso esponjoso. Tomada de

<http://fisiologia2b.zzl.org/musculoesqueletico.html>¹⁵⁵

Podemos distinguir dos tipos de hueso en función de su morfología: el cortical o compacto y el esponjoso o trabecular. Ambos formados por laminillas de tejido mineralizado que forman osteonas. El hueso trabecular está formado por laminillas óseas que constituyen un retículo tridimensional de espículas óseas ramificadas o trabéculas que delimitan un sistema laberíntico de espacios intercomunicados, ocupados por la médula ósea. En el hueso compacto las laminillas se disponen de forma concéntrica en torno a un canal vascular del interior del hueso, formando unas unidades estructurales cilíndricas llamadas sistemas haversianos u osteonas, dando el aspecto de una masa sólida continua.^{91,156}

La mayoría de los huesos están recubiertos por el periostio, que se trata de una capa de tejido conjuntivo especializado, dotada de potencia osteogénica, con capacidad de formar hueso. El revestimiento perióstico no está presente en aquellas áreas de los extremos de los huesos largos que están cubiertas por cartílago articular y en los zonas donde los ligamentos y los tendones se insertan en el hueso. En aquellas áreas donde falta el periostio, el tejido conjuntivo en contacto con la superficie del hueso no tiene actividad osteogénica y no contribuye, por tanto, a la curación de las fracturas.

La cavidad medular de la diáfisis y las cavidades del hueso esponjoso están revestidas por el endostio, que es una fina capa celular que posee capacidad osteogénica.

Tanto el hueso compacto como el trabecular están constituidos por células, matriz orgánica y sustancia mineral.⁹¹

1.1.4.4.2. Elementos celulares implicados: osteoblastos, osteocitos, osteoclastos.

En el tejido óseo encontramos distintos tipos de células óseas: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. A pesar de que los 2 primeros se consideran como tipos celulares distintos, hay pruebas de que uno puede transformarse en otro y es por lo tanto más razonable considerarlos como estadios funcionales diversos de un mismo tipo celular. Los osteoclastos tienen un origen diferente, provienen de las células madre hematopoyéticas de la médula ósea.²⁵

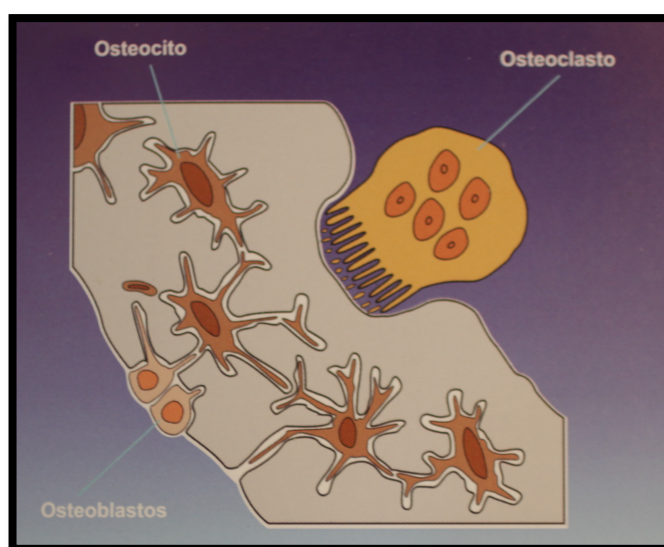


Figura 17. Elementos celulares en el tejido óseo. Tomada de Moreno Fernández A. y cols.¹⁵⁷

En el tejido óseo también encontramos monocitos, linfocitos, macrófagos, adipocitos y células endoteliales.

El hueso se origina a partir de células mesenquimales embrionarias procedentes de la médula ósea, al igual que otros tejidos conjuntivos. Estas células osteoprogenitoras perduran hasta la vida postnatal y se localizan en todas o casi todas las superficies libres de los huesos. Las células osteoprogenitoras por lo general son más activas durante la fase de crecimiento de los huesos, pero también se reactivan durante la vida adulta en las situaciones en las que se inicia la reparación de fracturas óseas y otras formas de lesión del hueso.

Desde los trabajos de Friederich y Owen se conoce que a partir de las células mesenquimales embrionarias de la médula ósea, se pueden originar 5 estirpes celulares diferentes. Estas células son los fibroblastos, los osteoblastos, los condroblastos, los adipoblastos y los mioblastos.

Los osteoblastos son células osteoformadoras de los huesos maduros y en fase de desarrollo. Se trata de células grandes de unas 40µm de diámetro, cuya forma es poliédrica, con un gran retículo endoplasmático rugoso, que sintetizan y segregan la matriz orgánica. La mineralización se inicia poco después de la formación de la matriz. Estas células secretan diversos componentes de la matriz como colágeno tipo I, proteoglicanos, osteocalcina, fosfatasa alcalina, osteonectina y osteopontina, además pueden producir factores de crecimiento que dan lugar a importantes efectos autocrinos y paracrinos sobre el crecimiento óseo. A través de la síntesis de citoquinas específicas median el remodelado óseo llevado a cabo por los osteoclastos (el ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B [RANK-L]) y en la hematopoyesis (Factor Estimulante del Crecimiento de colonias de Granulocitos [GM-CSF] y de Macrófagos [M-CSF]).¹⁵⁸

La mineralización se produce mediante la formación de unas pequeñas vesículas, con fosfatasa alcalina en su interior, que van a iniciar el proceso de cristalización del calcio y fósforo. Estas fosfatasas alcalinas que son producidas por los osteoblastos, escinden el pirofosfato inorgánico, que es un potente inhibidor de la mineralización, liberando fosfato.¹⁵⁸

Los osteoblastos tienen una vida media de 1 a 10 semanas, posteriormente pueden desaparecer por mecanismos de apoptosis, transformarse en células de revestimiento (lining cells) o quedar envueltas gradualmente por la propia matriz y convertirse en osteocitos (un 15%).

Los osteocitos son las principales células del hueso, siendo las más abundantes (10 veces más que los osteoblastos). Se encuentran en las lagunas osteoplasmáticas situadas en el interior de la sustancia intersticial calcificada y su cuerpo celular se adapta a la forma

lenticular de la cavidad que ocupa, emitiendo numerosas prolongaciones delgadas que van por los conductos calcóforos que se extienden por los canalículos de la matriz, de forma que no están aislados en sus lagunas, sino que están comunicados unos con otros, estando en ultimo termino comunicadas con las células situadas más superficialmente (osteoblastos y células de revestimiento). Esto explica cómo células situadas profundamente en la matriz calcificada del hueso pueden responder ante estímulos hormonales que, en apariencia, sólo tendrían acceso directo a las células que están en la vecindad inmediata de los vasos sanguíneos. De igual forma los osteocitos son capaces de activarse y controlar el remodelado óseo detectando las variaciones mecánicas de las cargas, fenómeno denominado mecanotransducción. De este modo forman una compleja red celular (sincitio) cuya función principal es la de participar en el remodelado óseo y en la maduración y remodelación de la matriz.¹⁵⁹

El hueso sufre durante toda su vida un proceso de remodelación interno y renovación a través del cual la matriz ósea es eliminada en múltiples puntos y sustituida por hueso neoformado. Las células encargadas de llevar a cabo la reabsorción ósea son los osteoclastos. Los osteoclastos pueden alcanzar hasta 150 μm de diámetro y pueden presentar hasta 50 núcleos, con un borde rugoso, que es donde tiene lugar la reabsorción. Estas células ocupan unas cavidades superficiales conocidas como lagunas de Howship, que se deben a la acción erosiva del osteoclasto sobre el hueso subyacente. Cuando realizan su función, los osteoclastos reciben unas señales químicas determinadas que son secretadas en un primer momento por los osteoblastos, las cuales se denominan factor estimulante de las colonias de macrófagos (M-CSF). Este estímulo da lugar a que los osteoclastos se dirijan a la zona a reabsorber y se adhieren a la superficie ósea mineralizada por el “ribete en cepillo” mediante integrinas, las cuales son proteínas transmembrana que reconocen las proteínas de anclaje presentes en la matriz osteoide, concretamente la secuencia Arg-Gly-Asp (o péptido RGD).^{160,161}

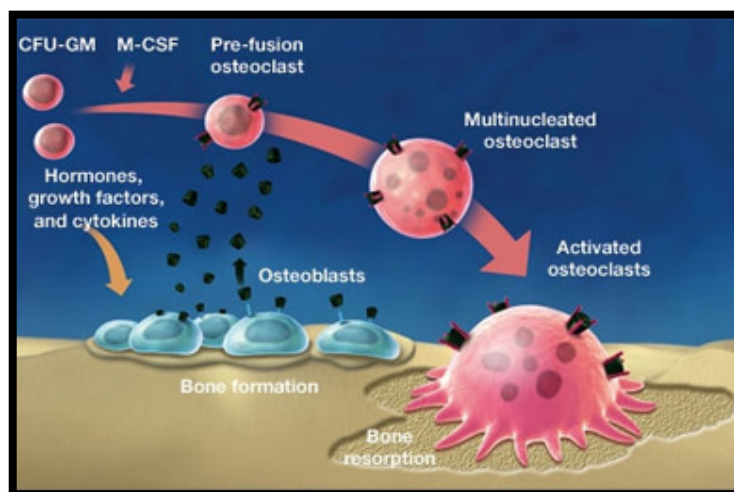


Figura 18. Proceso de formación y reabsorción ósea. Tomada de <http://www.rankligand.ca/resorbing-osteoclasts.html>¹⁶²

En el proceso de reabsorción se produce una primera fase de desmineralización, con una posterior degradación de la matriz ósea; mientras que inicialmente la producción de H^+ provoca una desmineralización haciendo más soluble la fase mineral, la producción posterior de interleuquinas (IL-6), proteasas (colagenasas, proteoglicanasas, metaloproteasas y catepsina), y de hidrolasas ácidas, facilita la degradación del colágeno óseo y completa la destrucción de hueso.¹⁶³

En el proceso de regulación de la osteoclastogénesis existen tres moléculas claves;^{158,164} La OPG (Osteoprotegerina), se trata de una proteína sintetizada por osteoblastos. El RANK-L ligando, el cual está situado en la superficie de osteoblastos. Y el RANK, que es el receptor del anterior, que se encuentra situado en la membrana de osteoclastos.

La interacción entre RANK-L y RANK da lugar a la activación de la diferenciación osteoclástica, efecto que es inhibido por mediación de la OPG, que al unirse el RANK-L inhibe la diferenciación osteoclástica. Se ha demostrado que la administración de RANK-L a ratones normales produce un aumento de la calcemia, debido a un aumento de la reabsorción ósea, mientras que la administración de OPG incrementa la densidad mineral ósea.¹⁶¹

Los osteoclastos presentan además receptores para la calcitonina, que es una hormona que inhibe la reabsorción ósea, sin embargo, no presentan receptores para sustancias proreabsorción como la hormona paratiroidea (PTH), que sí están presentes en la superficie de los osteoblastos. Hoy en día se sabe que una gran variedad de citoquinas (interleuquinas) y prostaglandinas intervienen en la regulación y activación de los osteoclastos estimulando la reabsorción ósea. A diferencia de los anteriores, el interferón

gamma (IFN γ) es inhibidor de la reabsorción, el factor de necrosis tumoral en altas concentraciones actúa estimulando a las prostaglandinas, que aumentan el proceso de formación ósea y el antagonista del receptor de la interleuquina-1 actúan también inhibiendo el proceso de reabsorción ósea.^{165,166}

Los macrófagos y linfocitos en las áreas de reabsorción liberan Interleuquinas (IL-1, IL-6, IL-11), Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos (GM-CSF) y Factor de Necrosis Tumoral (TNF), los cuales actúan favoreciendo la reabsorción.¹⁶⁷

1.1.4.4.2.1. El osteoblasto

Los osteoblastos son células grandes (20-30 μ m), de forma poliédrica, con un citoplasma basófilo y con un aparato de Golgi y un retículo endoplásmico rugoso de gran tamaño. Proceden de células mesenquimales pluripotenciales de la médula ósea.¹⁶⁸

Emiten prolongaciones citoplasmáticas hacia la matriz, que se comunica con la red de osteocitos y con osteoblastos vecinos. Los osteoblastos y osteocitos se comunican a su vez entre sí por proteínas transmembrana o integrinas, que actúan de enlace entre distintas células o entre una célula y la matriz extracelular, permitiendo el paso de mensajeros como el calcio, prostaglandinas o citoquinas.¹⁶⁹

Los osteoblastos van a sintetizar la matriz orgánica o sustancia osteoide a un ritmo de 2 a 3 μ m por día y expresan una enzima característica, la fosfatasa alcalina (FA), la cual permite la mineralización a un ritmo de 1-2 μ m por día. Hoy en día, se conoce que los osteoblastos sintetizan las proteínas colágenas y no colágenas de la matriz orgánica del hueso, dirigiendo la disposición de las fibrillas de la matriz extracelular, y contribuyendo a la mineralización de la sustancia osteoide, gracias a la FA, quienes median en la reabsorción llevada a cabo por los osteoclastos a través de la síntesis de citoquinas específicas y sintetizan factores de crecimiento.¹⁶¹ Tal y como hemos mencionado anteriormente, la vida media de los osteoblastos humanos es de 1 a 10 semanas al término de las cuales pueden desaparecer por mecanismos de apoptosis, transformarse en células limitantes o de revestimiento o en osteocitos (15 %). Las células limitantes son células elongadas y planas, presentan un núcleo en forma de huso, sin apenas organelas. Pueden expresar los marcadores osteoblásticos anteriormente citados, como BSP, osteonectina y fosfatasa alcalina (FA), así como el receptor de paratohormona (PTH). Permanecen a lo largo de la superficie endóstica, constituyendo con el endostio una capa protectora de la superficie ósea, que juega un papel importante en la activación del remodelado óseo.¹⁷⁰

1.1.4.4.2.2. El osteocito

Una vez que la matriz se ha mineralizado, algunos osteoblastos quedan atrapados dentro, transformándose en osteocitos. Los osteoblastos, osteoclastos y células limitantes se encuentran en la superficie ósea, mientras que los osteocitos se encuentran en el interior.

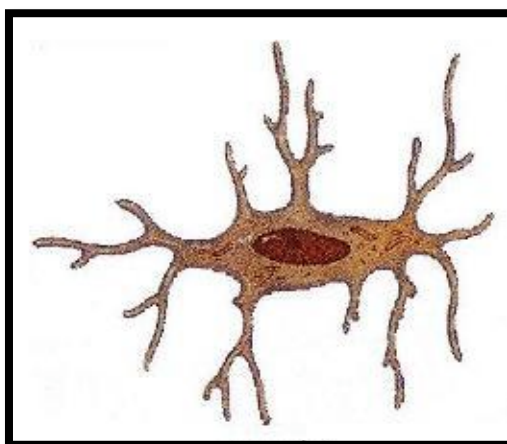


Figura 19. Imagen representativa de un osteocito. Tomada de <http://lalupa3.webcindario.com/biologia/sistema%20oseo.htm>¹⁷¹

Como ya hemos descrito anteriormente, los osteocitos son las células más abundantes del hueso (10 veces más que los osteoblastos). Poseen una forma estrellada y su cuerpo se sitúa en el interior de lagunas. Los procesos citoplasmáticos se comunican entre sí mediante los conductos calcóforos que se encuentran llenos de fluido óseo extracelular. De esta manera, los osteocitos se organizan formando un conjunto de células interconectadas las cuales representan una única estructura, existiendo una gran superficie de contacto en el interior y hacia la superficie ósea, y de esta forma se aseguran oxígeno y nutrientes.

En el momento en el que se produce un trauma en el hueso, se provoca el cese de la circulación sanguínea, lo que origina hipoxia y necrosis de los osteocitos que están a más de 0,1mm de un capilar intacto.¹⁷²

Los osteocitos participan también en la síntesis y mineralización de la matriz osteoide, se cree que su función principal es la de controlar el remodelado óseo, detectando las variaciones mecánicas de las cargas, fenómeno denominado mecanotransducción.¹⁵⁹

Los osteocitos son el estadio final desde la línea osteoblástica y no son capaces de renovarse. Poseen los mismos marcadores que los osteoblastos, teniendo como marcador específico el CD44, que es un receptor de membrana que se expresa fuertemente en ellos y es negativo en osteoblastos y células limitantes de revestimiento.

1.1.4.4.2.3. El osteoclasto

Los osteoclastos proceden de células madre hematopoyéticas medulares conocidas como unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos (CFU-GM), precursoras de macrófagos y monocitos.¹⁷³

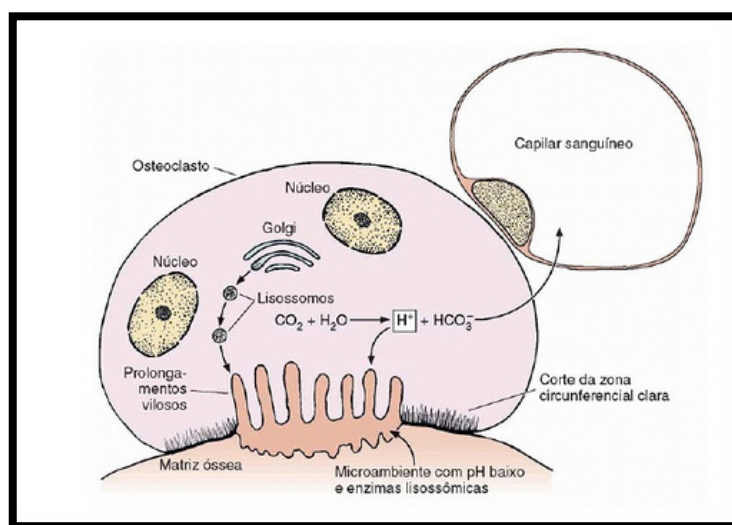


Figura 20. Osteoclasto. Tomada de Junqueira y cols.¹⁷⁴

Son células grandes de unas 100 μm , multinucleadas, ricas en mitocondrias y vacuolas. Los osteoclastos contienen fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR), la cual permite la desfosforilación de las proteínas, cuya actividad es aprovechada para su identificación, tanto *in vivo* como *in vitro*. También tienen receptores para calcitonina, entre otros.

Los osteoclastos tienen dos especializaciones en la membrana: un borde en cepillo o borde rugoso, que es donde se produce la reabsorción, y una zona clara, que es rica en microfilamentos, con integrinas, las cuales sirven de anclaje a la matriz. Para ello, los osteoclastos se movilizan hacia la zona a reabsorber y, a continuación, se adhieren a la superficie ósea mineralizada por el ribete en cepillo sellando los bordes del área a través de las integrinas. La integrina del osteoclasto, fundamentalmente $\alpha\text{v}\beta3$, reconoce la secuencia Arg-Gly-Asp (RGD) existente en el colágeno y en otras proteínas de la matriz osteoide. A este nivel el pH es ácido, ya que secretan hidrogeniones generados por la anhidrasa carbónica II y enzimas proteolíticas como colagenasas, metaloproteasas, catepsina K, glucuronidasa,¹⁷³ las cuales van a originar la reabsorción del hueso mediante la solubilización de la matriz orgánica primero y de la mineral después.

Respecto a la osteoclastogénesis hoy en día se sabe que los osteoblastos son fundamentales para la formación de osteoclastos. De esta forma, el factor estimulante de

las colonias de macrófagos (M-CSF) producido por los osteoblastos es requerido en las primeras fases de la osteoclastogénesis para la formación de células gigantes multinucleadas. Existen tres moléculas claves en la regulación de la osteoclastogénesis: la osteoprotegerina (OPG), proteína sintetizada por osteoblastos y preosteoblastos. El RANKL ligando, situado en la superficie de osteoblastos y preosteoblastos; que se trata de una citoquina transmembrana perteneciente a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF).¹⁷⁵ Y el RANK, receptor del anterior situado en la membrana de los osteoclastos y pre-osteoclastos.

Al interaccionar el RANKL y su receptor RANK se produce la activación de la diferenciación y de la actividad osteoclástica, aumentando la reabsorción ósea (Fig. 21). De igual forma, los efectos del RANKL tanto in vivo, como in vitro son inhibidos por la OPG, que es una proteína circulante producida por los osteoblastos y pre-osteoblastos perteneciente a la superfamilia de los receptores de TNF.^{22,159,161,176-178}

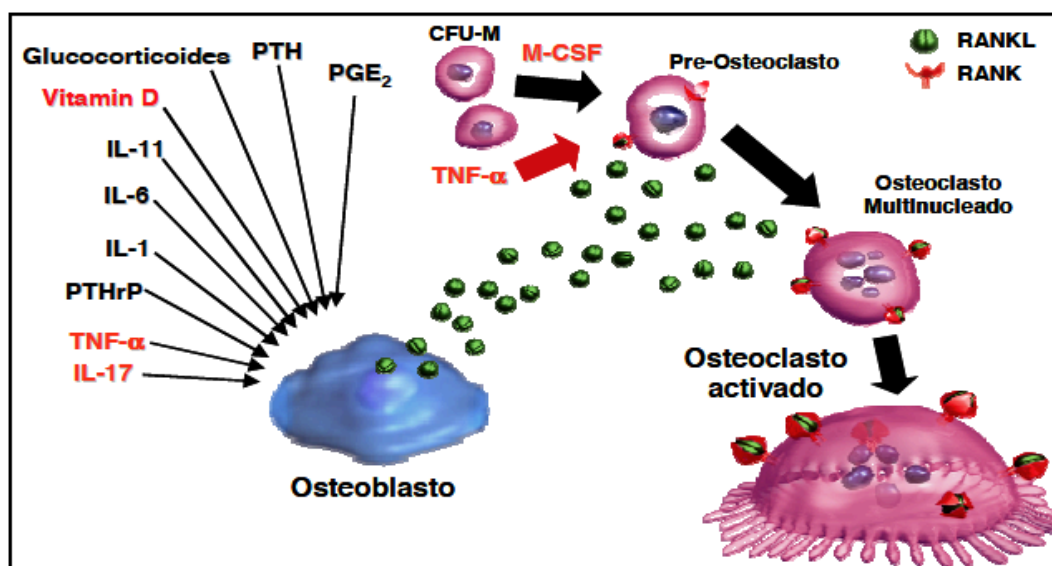


Figura 21. Esquema de la regulación de la osteoclastogénesis.
Tomada de www.boneacademy.com/pdfs/RANKL_slides.pdf¹⁷⁹

1.2. ETIOPATOGENIA DE LA RRAE EN ORTODONCIA.

La reabsorción radicular apical externa (RRAE) es una complicación relativamente común observada tras la finalización del tratamiento de ortodoncia. Consiste en un acortamiento permanente del ápice radicular, el cual se puede diagnosticar en una proyección radiográfica de rutina.^{180,181}

La reabsorción radicular es un efecto secundario que paradójicamente se encuentra íntimamente relacionado con la respuesta del tejido biológico,^{4,182,183} que permite que los dientes se muevan durante el tratamiento de ortodoncia y se asoció por primera vez en 1914.²⁰ Sin embargo, la reabsorción radicular apical externa no sólo está asociada con el tratamiento de ortodoncia, también se ha detectado en pacientes con ausencias dentarias, profundidad aumentada de sondaje periodontal, reducción de las alturas de la cresta ósea¹⁸¹ e incluso como resultado de las fuerzas oclusales.¹⁶

La reabsorción radicular detectable histológicamente puede ser un paso preliminar a la detección de reabsorción radicular apical externa permanente, la cual se detecta radiográficamente. En dientes examinados histológicamente, se ha detectado reabsorción radicular en el 100% de los dientes tratados con ortodoncia y menos frecuente en dientes examinados con ortopantomografía o con radiografías intraorales.^{67,80,184,185}

Owman y col., informaron que las lagunas de reabsorción iniciales son pequeñas y pueden identificarse por métodos histológicos y la reabsorción radicular inducida por el tratamiento de ortodoncia se detectan histológicamente a las 7 semanas de tratamiento por métodos histológicos y estas no son visibles aun en radiografías periapicales.¹⁸⁶

Se ha afirmado que entre el 7% y el 13% de los individuos que no han recibido tratamiento ortodóncico muestran de 1 a 3 mm de reabsorción radicular apical externa en las radiografías.⁷⁹

En un estudio reciente de Marques y cols., la incidencia de reabsorción radicular externa severa en los incisivos tras el tratamiento de ortodoncia se encontró ser un 14,5%.⁶⁹

Hemley encontró que el 3% de los dientes examinados en 195 pacientes tratados con ortodoncia mostraron reabsorción radicular apical.⁸¹

Rudolph, por otro lado, encontró cerca de 100% de reabsorción radicular en 439 pacientes tratados por él.⁸²

Lupi y Linge encontraron una incidencia de reabsorción radicular apical externa del 15% antes del tratamiento y del 73% tras el tratamiento.⁷⁷

Pero no tiene sentido comparar las frecuencias de reabsorción radicular entre los diferentes estudios, debido a la diversidad y generalidad de criterios usados para identificar la reabsorción radicular.

La reabsorción radicular severa, se produce cuando la reabsorción es mayor a 5mm, según algunos autores esto ocurre en un 2% a 5% de los pacientes tratados con ortodoncia.^{28,59,74,187-189}

Aunque la reabsorción radicular apical externa puede ocurrir en todos los dientes, se ha descrito más frecuentemente en los incisivos maxilares, seguido de los incisivos mandibulares y primeros molares.^{58,75,190-195}

En los incisivos maxilares ocurre con varios grados de incidencia y severidad.⁷¹ No se ha establecido claramente si esto se debe a que son los dientes que se mueven más rápido o porque poseen una sola raíz, delgada y con forma cónica. Sameshima GT. y cols., realizaron un gran estudio de más de 860 casos, se observó una reabsorción mayor de 2mm en un 25% de los pacientes tratados.⁷⁵ Anteriormente, Killiany informo de que la reabsorción radicular apical externa mayor a 3mm ocurría con una frecuencia de un 30%.^{23,190} Yua-hoa y cols., informaron que los incisivos centrales maxilares eran los que más reabsorción padecían y la frecuencia de reabsorción radicular apical externa sobre 1mm tras el tratamiento alcanzo hasta un 27% en los incisivos centrales maxilares, mientras esta fue de un 2% en los premolares maxilares.⁷¹ Otra consideración es que la reabsorción se produce más frecuentemente en el ápice. El tercio coronal de la raíz está cubierto con cemento acelular, mientras que el tercio apical está cubierto de cemento celular y el tercio medio es intermedio. El cemento periapical es más frágil y fácilmente dañado ante fuerzas elevadas y concomitantes estasis vasculares.^{11,122}

Actualmente se desconocen como los factores del tratamiento ortodóncico influyen en la reabsorción radicular apical externa.⁶⁷

La reabsorción radicular es un efecto indeseable que puede afectar a la vitalidad a largo plazo de toda la dentición, la literatura indica que los pacientes que están recibiendo tratamiento de ortodoncia tienen una mayor predisposición a padecer un severo acortamiento de la raíz.

La etiología de la RRAE es compleja y multifactorial, pero los resultados extraídos de la literatura permiten afirmar que la reabsorción radicular es causada por una combinación de factores biológicos individuales, predisposición genética y factores externos, entre los que se incluyen los factores mecánicos.^{15,16,23,79,196} Aunque muchos factores son los que influyen en la aparición de la reabsorción radicular, ninguno es suficiente para explicar por sí mismo la variación individual o la susceptibilidad a padecer la reabsorción radicular apical externa. Ambos, factores genéticos y ambientales interactúan para desarrollar un fenotipo.¹⁸⁰

Los factores de riesgo durante el tratamiento de ortodoncia incluyen duración del tratamiento,^{68,71,188,197-207} magnitud de la fuerza aplicada,^{47,201,208-214} dirección del movimiento dentario,^{194,206,207,209,215-217} cantidad de desplazamiento del ápice,^{8,198,199,203,215,218} historia de dientes extraídos.⁷¹ Así como el método de aplicación de la fuerza (continua o intermitente),^{190,210,219-223} el tipo de aparato,^{73,214,224} y la técnica empleada.^{58,59,73,206,215,225,227-231} Traumas dentales, especialmente con reimplantación de dientes avulsionados, están también asociados a un incremento de reabsorción radicular apical externa.²³² Los movimientos ortodóncicos y la biomecánica empleada para ello, representan aproximadamente de un décimo a un tercio de la variación total de la reabsorción radicular apical externa.^{190,200,233} Los factores de riesgos dependientes del paciente incluyen; historias previas de reabsorción radicular,^{181,214,234,235} morfología radicular, longitud de la misma y raíces desarrolladas con anormalidad,^{68,75,78,189,191,194,203-205,236-240,278} influencias genéticas,^{16,75,180,181,196,241-248} factores sistémicos,²⁴⁹⁻²⁵² incluyendo drogas (nabumetone),²⁵³ deficiencias hormonales, hipotiroidismos, hipopituitarismos,²⁵⁴⁻²⁵⁷ asma,^{8,189} proximidad radicular a hueso cortical,^{194,197,233} densidad de hueso alveolar,^{197,258-260} alcoholismo crónico,²⁶¹ historia de previos traumas,^{4,8,48,68,181,190,191,226,234,235,262} Individuos con bruxismo, que se muerden las uñas de forma crónica y mordidas abiertas anteriores con hábito de deglución inmadura²⁶³, tratamiento endodóntico,^{8,78,234,235,264,265} así como la severidad y el tipo de maloclusión,^{75,78,181,191,194,198,199,202,213,267} la edad del paciente,^{68,79,188,199, 203,204,219,268,270,271} y el sexo.^{16,278,75,199,203,213,233,235,272} Aunque algunos estudios han encontrado que las mujeres que han recibido tratamiento de ortodoncia tienen una mayor incidencia de padecer reabsorción radicular apical externa que los hombres,^{236,273} otros estudios han encontrado que no existen diferencias entre hombre y mujeres tratadas con ortodoncia.^{68,206,215,225,266,274} La susceptibilidad individual es considerada como un factor mayor en determinar la aparición de reabsorción radicular apical externa habiendo recibido previamente o no tratamiento de ortodoncia.^{198,275,181}

1.2.1. Variabilidad individual

La RRAE está influenciada por una combinación de factores ambientales y de factores genéticos. Los esfuerzos por investigar los factores propios del individuo se han centrado en un posible componente genético.

Desde que las fuerzas mecánicas y otros factores ambientales no explican adecuadamente la variación observada entre expresiones individuales de RRAE, un mayor interés se ha centrado en el papel de los factores genéticos sobre la susceptibilidad a la RRAE.¹²³

Parece que la reacción a la fuerza de ortodoncia puede variar en función de los antecedentes genéticos del individuo. Estos factores genéticos podrían estar relacionados con las proteínas que regulan la reabsorción del cemento y la reparación durante la aplicación de la fuerza.¹²³

La heredabilidad se define como la proporción de la variación fenotípica en una población atribuible a la variación genotípica entre individuos. La variación entre individuos puede deberse a factores genéticos y/o ambientales. Los análisis de heredabilidad estiman las contribuciones relativas de las diferencias en factores genéticos y no-genéticos a la varianza fenotípica total en una población. El valor de la heredabilidad indica en qué grado un rasgo o enfermedad se debe a causas genéticas o ambientales. Su estimación es uno de los primeros objetivos en el estudio genético de un rasgo cuantitativo como la RRAE. Se requiere el análisis de marcadores de Ácido desoxirribonucleico (ADN) variables para indicar qué áreas del genoma contienen genes que son al menos parcialmente responsables de la variación observada en la RRAE asociado con el tratamiento de ortodoncia. Puede variar entre 0 y 1, lo que indica la importancia relativa de la naturaleza (la genética), en comparación con la naturaleza (medio ambiente) en la variabilidad de un rasgo determinado.²⁷⁶ Una heredabilidad de 0 significa que la variación genética no contribuye en absoluto a la variación en el fenotipo. Una heredabilidad de 0,5 significa que tanto factores genéticos como ambientales contribuyen por igual a la variación fenotípica. Un rasgo con una estimación de heredabilidad de 1, se expresa teóricamente con la totalidad de su variación relacionada con la variación genética, y ninguna variación relacionada con la variación ambiental.¹⁸⁰

Las estimaciones de heredabilidad han mostrado que aproximadamente la mitad de la RRAE sucede con el tratamiento de ortodoncia y casi dos tercios de la RRAE se da en los incisivos maxilares específicamente y son atribuibles a variaciones genéticas.^{16,181}

Hasta la fecha, las causas de la RRAE son poco conocidos, y no es posible predecir quién desarrollará RRAE, ni en qué grado.¹⁶

Muchos factores han sido investigados para explicar las diferencias observadas entre los individuos respecto a la susceptibilidad a padecer RRAE. Además del componente medio ambiental (aumento del estrés y la tensión en el ligamento periodontal y hueso alveolar secundaria a las fuerzas oclusales y a las fuerzas ortodóncicas), los factores genéticos que codifican las proteínas y rutas implicadas en el hueso alveolar y el cemento, influyen en la susceptibilidad o resistencia a padecer RRAE. Se estima que los factores genéticos pueden explicar aproximadamente el 64% de la variación de la RRAE en los seres humanos. Los datos actuales sugieren que más de un gen está involucrado en el proceso de la enfermedad.¹²³

Por otra parte, un fondo genético que predispone, podría determinar una extrema susceptibilidad a sufrir RRAE ante la ausencia de factores causales.²⁷⁷

La susceptibilidad individual a padecer RRAE es poligénica, interacción complicada de un número de proteínas codificadas por un número de genes que interactúan con un número de factores ambientales, de los cuales la fuerza de ortodoncia puede ser uno.^{16,224,278}

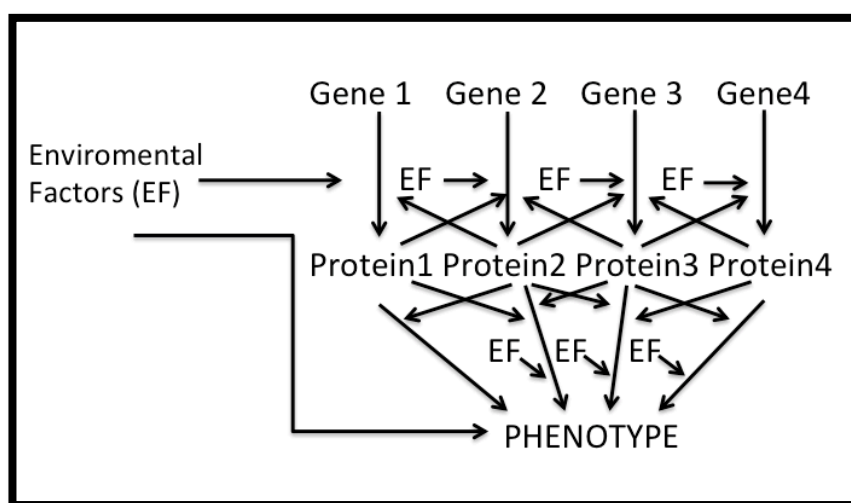


Figura 22. Los factores ambientales y múltiples genes son fundamentales para el desarrollo de los rasgos complejos (poligénicos). La herencia poligénica tiene un número variable de factores genéticos que pueden influir, algunos de los cuales tienen más influencia que otros, pero ninguno es capaz de producir el rasgo por sí mismo. Modificada de Abass et al.¹²³

Existe una considerable variación individual a padecer RRAE asociado con el tratamiento de ortodoncia, que dependerá de su indicación, la predisposición individual y la etiología multifactorial.^{12,16,75,273,278} Esta variabilidad puede ser debido a una predisposición innata o sistémica a padecer reabsorción en dientes permanentes y temporales en estos individuos.^{12,266,278-281}

La etnia también constituye un papel importante, se ha reportado que los pacientes asiáticos tienen menos RRAE que los pacientes blancos o hispanos.²⁶⁶ Sameshima y Sinclair analizaron los registros de 868 pacientes que fueron tratados con aparatología fija ortodóncica y encontraron que los pacientes asiáticos experimentan significativamente menos reabsorción radicular que los pacientes blancos o hispanos. Si bien esto, puede inferir una diferencia étnica en base a factores genéticos. Los factores ambientales o culturales también pueden ser importantes.²⁶⁶

1.2.2. Estimación de la influencia de los factores genéticos

Uno de los métodos clásicos para estimar el aspecto genético de un rasgo consiste en estudiar las familias, especialmente a los gemelos.²⁸² Los estudios en gemelos proporcionan un poderoso método para reconocer los efectos genéticos y ambientales en la manifestación de un rasgo. Esto se hace generalmente mediante la comparación de gemelos monocigóticos (MZ) y dicigóticos (DZ). Se supone que en estos estudios los gemelos comparten las mismas condiciones ambientales, lo que debería reducir el sesgo de los factores ambientales. Gemelos monocigóticos comparten 100% de sus genes, mientras que los gemelos dicigóticos comparten el 50% de sus genes.

En un estudio retrospectivo en gemelos encontraron evidencia de factores genéticos y ambientales influyendo en la RRAE.²⁴⁷ Ngan y cols. analizaron 16 gemelos monocigóticos y 10 dicigóticos. Todos los gemelos tenían zygoty diagnosticada. Cada par de gemelos tenía el mismo tipo de maloclusión, fueron tratados con el mismo tipo de aparato, y por el mismo clínico. Las longitudes de los incisivos superiores, incisivos inferiores y molares mandibulares fueron evaluados tanto cualitativa como cuantitativamente, en ortopantomografías pre y post-tratamiento. La contribución genética a la RRAE se evaluó mediante estimaciones de concordancia y heredabilidad. Estimaciones de concordancia de RRAE medidas cualitativa y cuantitativamente fueron 44,9 y 49,2% respectivamente para

los gemelos monocigóticos, y 24,7 y 28,3% respectivamente para los gemelos dicigóticos. Se obtuvo una estimación de heredabilidad general de 0,34. Ngan determinó que la RRAE no era dependiente de la longitud de la raíz pretratamiento. Las estimaciones cualitativa y cuantitativamente de concordancia indicaron un componente genético en la reabsorción radicular.²⁴⁷

Ya en 1991, los resultados de los estudios de Michalowicz y cols. que utilizaron a gemelos que habían crecido separados, sugirieron que un componente hereditario había determinado la pérdida de hueso crestal.²⁸³ La pérdida de hueso crestal a menudo se produce en conjunto con la RRAE, y puede haber componentes transmisibles análogos para estos dos eventos patológicos. Informes en la literatura de ortodoncia también sugieren que la RRAE puede depender de la predisposición familiar,^{15,263,281,284-287} pero esta conjetura no ha sido probada.

En 1975, Newman²⁷⁸ sugirió la predisposición familiar a padecer RRAE, aunque el patrón de herencia no era claro. No había evidencia directa de una predisposición genética hasta el estudio de Harris et al,¹⁶ quien investigó la hipótesis de la influencia genética a padecer RRAE utilizando gemelos en 1997; informaron de alta heredabilidad (70%). Aunque las estimaciones de heredabilidad no proporcionan información sobre el número de posibles genes que contribuyen al fenotipo, el estudio de Harris y cols. indicó que es probable que haya una predisposición genética importante a padecer RRAE.^{16,278}

Harris et al.,¹⁶ estudiaron una muestra de hermanos gemelos (103 pares), los cuales fueron tratados con la misma técnica por un mismo ortodoncista. Las longitudes de la corona y la raíz se midieron en telerradiografías y ortopantomografías antes y después del tratamiento. Seis raíces se midieron en cada paciente, y la disminución de la longitud de la raíz fue la variable dependiente. Se utilizaron modelos lineales generalizados para cuantificar diferentes variables; sexo, edad, severidad de la maloclusión (FMA, ANB, AOBO, resalte, NAP). Los resultados mostraron que hay un factor genético en la susceptibilidad a padecer RRAE. Las estimaciones de heredabilidad fueron bastante alta, con un promedio del 70% para tres raíces, aunque baja para el incisivo mandibular, probablemente debido a la poca variación.¹⁶

Algunas personas parecen tener resistencia ante la RRAE bajo el estrés mecánico y otras, al contrario, son propensas a experimentar RRAE severa bajo las mismas condiciones mecánicas.¹⁶

En un esfuerzo por identificar los factores genéticos que predisponen a la RRAE, Al-Qawasmi R.A. y cols. se enfocaron en la búsqueda de genes que evidenciaban el parentesco en 38 pedigrís. Investigaron la posible vinculación y el desequilibrio de parentesco entre los marcadores polimórficos *TNFRSF11A*, *TNSALP*, y los genes de *TNF* y RRAE de una forma sencilla en familias caucásicas tratadas con ortodoncia.²⁴⁸ En su estudio encontraron evidencia sugerente de vinculación entre la RRAE de los incisivos centrales superiores y un marcador polimórfico D18S64 (LOD puntuación de 2,51). Este marcador polimórfico se encuentra cerca del gen *TNFRSF11A*, lo que sugiere que este locus está estrechamente vinculado o contribuye a la susceptibilidad a padecer RRAE. El gen *TNFRSF11A* codifica para la proteína RANK, una molécula de señalización esencial en la diferenciación y en la función de los osteoclastos.²⁴⁸ No se han encontrado pruebas que vinculen a los genes *TNF* y *TNSALP* con la RRAE.^{181,248}

En otro estudio, Al-Qawasmi y cols., estudiaron a 35 familias estadounidenses blancas y examinaron la vinculación y asociación entre un polimorfismo del gen 1(IL-1 α e IL-1 β). Determinaron que un polimorfismo del gen *IL1B* (+3953/+3954 C<T) contribuye al 15% de la variación total observada en la RRAE en el incisivo central superior en la muestra estudiada.¹⁹⁶ Las personas homocigotas para el alelo IL-1 β 1 tienen 5,6 veces (IC 95 % 1,9 a 21,2) aumentado el riesgo de padecer RRAE mayor a 2 mm, en comparación con aquellos que no son homocigotos para el alelo IL-1 β 1.^{196,288,289}

Otro tipo de estudios para estimar los factores genéticos son los análisis de asociación, que consiste en un método para determinar si un alelo marcador particular es más frecuente en un grupo de sujetos con la enfermedad en comparación con un grupo control. Se ha reportado evidencia significativa de vinculación entre un polimorfismo IL-1 β con la RRAE.²⁴⁸

Hartsfield y cols. determinaron que los factores genéticos representan al menos el 50% de la variación en la RRAE.¹⁸¹ La variación en el gen *IL1B* en individuos tratados con ortodoncia representa el 15% de la variación en la RRAE.¹⁹⁶ La evidencia histórica y

contemporánea indican que una lesión en el ligamento periodontal y en las estructuras de soporte en el sitio de compresión de la raíz después de la aplicación de la fuerza de ortodoncia es el primero de los eventos que conduce a la aparición de la RRAE. Disminución de la producción de IL-1 β en el caso de la IL-1 β (3953) alelo 1 puede dar lugar a una disminución de la reabsorción ósea en el hueso cortical, en la interfase del ligamento periodontal, la cual puede dar lugar a una tensión prolongada. Se concentra en la raíz del diente y provoca una cascada de fatiga relacionada con eventos que conducen a la reabsorción radicular.¹⁸¹

Estos datos indican que el alelo 1 del gen de la *IL1B*, conocido por disminuir la producción de citoquina IL-1 in vivo, aumenta significativamente el riesgo de reabsorción radicular apical externa.²⁹⁰

En los últimos años,²⁹¹ y tras el estudio realizado por Al-Qawasmi y cols. en 2003,¹⁹⁶ una serie de estudios de casos y controles (Bastos Lages et al, 2009.; Gülden et al, 2009.; Tomoyasu, 2009; Iglesias-Linares, 2012a, b; Linhartova, 2012, Sharab,2015) se han llevado a cabo para investigar la asociación entre la IL-1 β +3954 C> T polimorfismo y el riesgo de padecer RRAE en pacientes con tratamiento de ortodoncia.^{241-244,246,292,293}

Bastos Lages y cols.²⁴³ llevaron a cabo un estudio para determinar la relación entre un polimorfismo del gen *IL1B* y la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia. La muestra estaba constituida por 61 pacientes brasileños que fueron divididos en dos grupos en función de la presencia o no de RRAE en los incisivos maxilares tras el tratamiento de ortodoncia. Determinaron que la variación del gen *IL1B* (+3954), provocaba un riesgo incrementado de padecer RRAE.²⁴³

Gülden y cols.,²⁴⁴ por su parte, asociaron el polimorfismo del gen *IL1A* (-889) con la aparición de RRAE.

Recientemente, Iglesias-Linares y cols.²⁴¹ demostraron un aumento del riesgo de padecer RRAE en sujetos con *IL1B* (+3953 CC) genotipo, y no encontraron asociación significativa para *IL1A* (-889C/T) en un estudio con una muestra de 54 pacientes tratados de ortodoncia en población Española. Estos autores incluyeron recientemente *IL1RN* 2018 C / T (rs419598) con variante en el exón 2 en el análisis genético y encontraron una

asociación altamente significativa de genotipo + 2018TT con la RRAE.²⁴¹ En otro estudio llevado a cabo por el mismo grupo, determinaron que el alelo 1 del gen antagonista del receptor de la interleuquina-1 (rs419598) están asociados ($p = 0,001$ **) con un mayor riesgo de sufrir RRAE post-ortodoncia en los dientes endodonciados.²⁴⁵

Posteriormente Linhartova y cols.²⁴⁶ en un estudio llevado a cabo en la población Checa también han asociado variaciones en el gen de la IL1RN con la aparición de esta complicación del tratamiento de ortodoncia.

Pereira y cols. en su estudio,²⁴² ponen de manifiesto que los principales factores que contribuyen al proceso de RRAE son el género, la duración del tratamiento, el uso de un aparato Hyrax, extracción de premolares y el polimorfismo del gen P2RX7 (rs1718119). Estas cinco variables explican aproximadamente el 30% de la variabilidad del fenotipo, lo que sugiere la existencia de otros factores etiológicos.²⁴²

Otra de las vías que se han explorado en relación a la asociación genética con la RRAE, es el sistema de regulación osteoclástica y odontoclástica RANK/RANKL/OPG.²²

La interacción competitiva entre las dos moléculas antagonistas, RANKL y OPG determina en gran medida la activación, proliferación y supervivencia de los osteoclastos y los odontoclastos, responsables de la RRAE. Estas dos moléculas son citoquinas que se encuentran en un equilibrio oscilante, con aumento de una o de otra, hecho que determinará que se de la unión efectiva de RANKL o bien de OPG al receptor RANK (receptor del activador del factor nuclear kappa beta), que se encuentra en la superficie de los odontoclastos.^{9,22}

Otros métodos clásicos para estimar los factores genéticos son los estudios en animales. Realizar estudios en ratones para analizar los efectos genéticos sobre determinados rasgos se está haciendo popular. Esto es debido a que el genoma del ratón y el del ser humano muestran un alto grado de homología (80%).^{294,295}

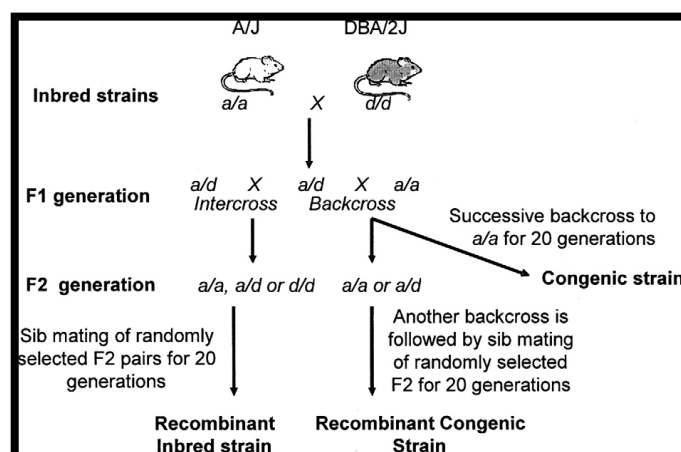


Figura 23. Los diferentes tipos de cruces de los animales consanguíneos de diferentes cepas son útiles para diferentes aspectos de los estudios genéticos. Tomada de Shaza y cols.¹⁸⁰

Brudvik y Rygh fueron los primeros en verificar que los ratones podían emplearse como modelo para investigar la respuesta del tejido a la fuerza de ortodoncia, incluyendo la presencia de RRAE tras el tratamiento de ortodoncia.²⁹⁶

Tras el estudio anteriormente citado, otros estudios confirmaron el efecto de la proteína IL-1 β sobre la RRAE. Cuando se aplica una fuerza de ortodoncia, en los ratones KO la RRAE aumentó notablemente en comparación con la RRAE observada en los ratones de tipo salvaje (C57BL/6J).²⁹⁷ Esto no sólo confirma el papel de la IL-1 β en la reabsorción de la raíz como un posible factor, sino que también sugiere que, en este caso, el mecanismo no es un aumento en la inflamación debido a la IL-1 β , ya que los ratones KO han demostrado no tener ninguna actividad de IL-1 β . Además de ser una citoquina, la IL-1 β también tiene un efecto en la RRAE, una disminución de esta proteína puede aumentar el estrés y la tensión en la raíz, que puede conducir a un aumento de la reabsorción de la raíz.²⁹⁷

En 2006, Al-Qawasmi RA y cols.,²⁹⁸ examinaron el efecto de los genotipos en la susceptibilidad o resistencia a desarrollar RR secundaria a la fuerza de ortodoncia. La muestra estaba constituida por ratones macho de nueve semanas de edad, seleccionados de ocho cepas puras y aleatoriamente distribuidos en un grupo control (C) o en un grupo experimental (de tratamiento). Cada uno de los ratones tratados llevó un aparato de ortodoncia en el maxilar izquierdo para mover el primer molar hacia mesial durante 9 días. Las secciones histológicas del diente se utilizaron para determinar el grado de RR, así como la actividad de TRAP (Fosfatasa ácida resistente a tartrato). Se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon para evaluar las diferencias entre los grupos. Los resultados

mostraron que la DBA/2J, ratones BALB/cJ, y 129P3/J puras cepas de ratón son altamente susceptibles a la RR, mientras que los ratones A/J, C57BL/6J y SJL/J son mucho más resistentes.²⁹⁸

Abass S. y cols. en un estudio publicado en el 2008 analizaron ratones genéticamente puros. Examinaron la herencia y la influencia del sexo de los padres en la susceptibilidad a padecer RR asociada con la fuerza de ortodoncia. RRAE asociado con la fuerza de ortodoncia se determinó histológicamente en ratones machos y hembras (A/J, DBA/2J, y BALB/cJ), y en los cruces A/J x DBA/2J y A/J x BALB/cJ (10 machos y 10 hembras/cruces recíproco). La RRAE asociado con la fuerza de ortodoncia fue inducida al inclinar el primer molar hacia mesial durante 9 días. Diferencias de sexo se observaron sólo en los ratones de la cepa BALB/cJ. Se observaron dos patrones de heredabilidad; el cruce de A/J x BALB/cJ eran resistentes, lo que sugiere que la A/J tienen alelos de resistencia dominantes ante la RRAE. Por otro lado, el cruce de A/J x DBA/2J mostró RRAE asociado con la fuerza de ortodoncia, sugiriendo un rasgo poligénico.²⁹⁹

Abass y cols. reportaron que el nivel de OPG se incrementa en los tejidos que rodean las raíces de los ratones resistentes en comparación con los ratones susceptibles a padecer RRAE. Es por eso, que los genes que codifican para RANKL y OPG también son candidatos para el análisis de mediadores clave de la función de los osteoclastos y por tanto en el desarrollo de RRAE.⁴²

Un estudio clínico ha demostrado que el polimorfismo G1181C en OPG se asocia con RRAE, y este representa aproximadamente el 8% de las variaciones clínicas vistas según este estudio. Al igual que con los datos de la IL-1 β , este es otro gen en el que la variación puede influir en la RRAE en combinación con otros factores. Parece que la expresión diferencial de moléculas que regulan la función de osteoclastos/ odontoblastos juega un papel en la determinación de la susceptibilidad a la RRAE durante el tratamiento de ortodoncia.¹²³

El gen de TNF se asigna a 6p21.3. polimorfismo de un solo nucleótido (*SNP*) localizado en el nucleótido -308 con respecto al sitio de inicio transcripcional. TNF α sirve como marcador polimórfico para estudios de vinculación.¹⁷

En la actualidad, no están definidos un conjunto claro de marcadores genéticos para

predecir de un modo fiable qué pacientes desarrollarán RRAE o la gravedad de esta al llevar a cabo un tratamiento de ortodoncia.⁴² Aunque se han descrito diferentes factores que aumentan la susceptibilidad a padecer RRAE, ninguno es suficiente, por sí solo, para predecir la RRAE de forma fiable.

1.2.3. Fisiopatología y regulación molecular

Los factores genéticos juegan un papel importante en el desarrollo de la RRAE durante el tratamiento de ortodoncia. Existen dos vías que pueden desencadenar este proceso: control de la activación de los osteoclastos a través de la vía de modulación inflamatoria ATP/P2XR7/IL-1 β ; o a través de la vía de control de activación de los osteoclastos RANK/RANKL/OPG.³⁰⁰

1.2.3.1. ATP / P2XR7/IL-1 β

La ausencia de la citoquina IL-1 β , un mediador típico de la respuesta inflamatoria, aumenta la RRAE asociado con la fuerza de ortodoncia. Curiosamente, este efecto no fue mediado por cambios significativos en el número de células TRAP positivas cerca de la superficie de la raíz.³⁰⁰

El hallazgo de que la RRAE aumenta con ambos IL-1 β y P2rx7 en knockout ratones refuerza aún más la evidencia de que la IL-1 β puede, en algunos casos desempeñar un papel en la RRAE, e indica que la variación en los receptores purinérgicos P2XR7, así como en otras proteínas implicadas en la maduración y la liberación de IL-1 β , también podría ser un factor que influya en la aparición de la RRAE. Cuando no se aplica la fuerza ortodónica, no es estadísticamente significativo que la IL-1 β y P2rx7 influyan en la RR. Mientras que al aplicar la fuerza ortodónica sí aumenta significativamente, proporciona evidencia de una interacción entre el genotipo y los factores ambientales que influyen en RRAE.³⁰⁰

Rossi y cols.³⁰¹ en 1996 examinaron la IL-1 β y el TNF- α en la producción de monocitos de un grupo de pacientes de ortodoncia con severa acortamiento de la raíz y no encontraron diferencias significativas en los niveles de medidas entre los grupos de reabsorción y de no reabsorción. Esto apoya la probabilidad de que la RRAE es

genéticamente heterogénea.³⁰¹

Como se mencionó antes, otro gen candidato para la RRAE es el TNFRSF11A, que codifica el receptor activador del factor nuclear κ B (RANK) y mapas a 18q21.2 - 21.3.,³⁰² las mismas regiones que hacen familia osteólisis expansiva (FEO) y una forma de la enfermedad de Paget del hueso familiar (PDB).³⁰³ RANK es un miembro de la superfamilia de receptores de TNF y junto con el ligando de RANK, media la señalización que conduce a la osteoclastogénesis.³⁰⁴

Otro gen candidato para la RRAE en el tratamiento de ortodoncia es el tejido fosfatasa alcalina no específico (TNSALP), el cual juega un papel importante en la mineralización y la formación del cemento.³⁰⁵ El gen TNSALP mapas en el cromosoma 1p36.1-34.³⁰⁶

Estudios previos implican al $\text{TNF}\alpha$ en la remodelación ósea in vitro e in vivo, por lo que se considera un gen candidato para la RRAE. Por otra parte, se ha visto que los niveles de $\text{TNF}\alpha$ se elevan durante los movimientos de los dientes de ortodoncia en el surco gingival humano.^{307,308}

La P2X7R se ha identificado en la regulación de diversas respuestas pro-inflamatorias e inmunes. Una característica inusual de la P2X7R es su alto umbral para la activación por ATP extracelular ($\text{EC}_{50} \sim 500 \text{ M}$), lo que contrasta con los umbrales de activación mucho más bajas para los otros seis miembros de la familia P2X ($\text{EC}_{50} \sim 10 \text{ M}$).³⁰⁹⁻³¹³ El P2X7Receptor es un subtipo de receptor ionotrópicos P2 ATP-gated que está más altamente expresado en los leucocitos incluyendo monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y linfocitos B.³⁰⁹⁻³¹³ Canales funcionales compuestos por un trímero de P2X7R requieren la unión de al menos 2 o 3 moléculas de ATP por trímero de compuerta de apertura del canal. La activación de P2X7R por ATP extracelular abre el canal para facilitar flujos transmembrana muy rápidos de Na^+ , K^+ , y Ca^{2+} . Aunque el P2X7R no es selectivo, favorece la penetración de cationes monovalentes debido al efecto de bloqueo por cationes divalentes tales como cinc, magnesio, y calcio.³¹⁴ La apertura del canal provoca acumulación de calcio intracelular y la liberación de mediadores inflamatorios tales como PGE_2 , $\text{IL-1}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$, todo fundamental en el control de la fisiología ósea.^{312,315-318}

Recientes investigaciones han demostrado que este receptor tiene una función importante en el metabolismo de los tejidos apoptóticos y necróticos. Tras un trauma mecánico, las células dañadas liberan ATP que conduce a la activación de P2X7 en los macrófagos y otros tipos de células, que a su vez liberan citocinas IL-1 .³¹⁹ Los neutrófilos

pueden actuar rápidamente para eliminar las células apoptóticas y prevenir la necrosis. P2X7R KO derivados de macrófagos no liberan IL-1 en respuesta a ATP, lo que resulta en una respuesta inflamatoria aguda atenuada.^{315,320}

Otro de los elementos moleculares clave que se han descrito en relación al proceso de la RRAE es el ATP (Adenosin Trifosfato) es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular, puede ser liberado en condiciones de daño celular o lisis. También hay evidencia de liberación vesicular de ATP a partir de los tejidos excitables.³²¹ Para las células no excitables, la liberación extracelular de ATP se produce en tres contextos diferentes: respuesta a la tensión mecánica, la estimulación por agonistas de los receptores de la superficie celular y la liberación constitutiva por las células en reposo.³²² Además, se reconoce que la acumulación de ATP extracelular puede ser una respuesta patofisiológica a la hipoxia o la inflamación.³²³ La concentración extracelular de ATP se puede mantener en el nivel nanomolar por las células en reposo y puede alcanzar niveles milimolares durante la lisis celular.³²⁴ Paiva Novaes MS y cols., observaron que en la fase de reabsorción de la raíz, los contenidos de ATP eran más bajo y las actividades de Ca^{2+} y Mg^{2+} ATPasas aumentaban.³²⁵

En respuesta a ATP, la P2X7R facilita una afluencia inmediata de Na^{+} y Ca^{2+} , y flujo de salida de K^{+} , lo que resulta en la despolarización inmediato y un gran aumento en el Ca^{2+} citosólico libre. El flujo de salida de P2X7Rdependente K^{+} se asocia con la formación de la caspasa-1 madura.³²⁶

La adición de diversos lípidos, tales como lisofosfatidilcolina (LPC) y lisofosfatidilserina, aumenta la potencia del ATP en la regulación de la P2X7R, absorción de etidio, secreción de IL-1 β y fosforilación de p44/42 MAP quinasa.^{327,328} Además, la potencia de ATP/P2X7R puede verse afectada por polimorfismos de los receptores.^{329, 330} También es notable que los metabolitos de ATP, tales como ADP y AMP, también pueden desencadenar la liberación de IL-1 β de una manera dependiente de P2X7 en las células microgliales cuando estas células se saturaron primero con ATP per se.³³¹ La función normal de P2X7R resulta en una respuesta de fase aguda óptima que extiende el ciclo de vida de los neutrófilos.³³² Una respuesta aguda ineficaz puede llevar a una respuesta crónica abrumadora: infiltración masiva de macrófagos, apoptosis abundantes y células necróticas, y daño tisular generalizada.³¹⁵

Por lo tanto, P2X7R es un candidato ideal para la mediación de la respuesta de ortodoncia, que implica el metabolismo de un tejido asociado tipo necrótico (tejido del

ligamento periodontal hialinizado) y el modelado o remodelado del hueso.³³³⁻³³⁷

Estos procesos están mediados por el P2X7R en otros sistemas fisiológicos.

RRAE, que como venimos definiendo en este estudio es un efecto secundario no deseado de movimiento de ortodoncia, se ha asociado con la presencia de macrófagos en varios estudios.³³⁶⁻³³⁸

Además, una fuerte asociación se ha descrito anteriormente entre la IL-1 β (cuya forma activa depende de la activación de P2X7R) y la RRAE en diferentes estudios.^{196,297}

La P2X7R también tiene relevancia clínica directa debido a que hay muchos polimorfismos genéticos humanos funcionales que pueden inducir diferentes niveles de afinidad de estos receptores para ATP.³³⁹ Se planteó la hipótesis de que la variabilidad en la expresión de P2X7R es un factor importante en la variación individual al aplicar la fuerzas ortodóncicas cuando se controla el ambiente mecánico.

En un estudio llevado a cabo por Viecilli y cols. la histología mostró que la RRAE grave se produjo principalmente en áreas con acumulaciones densas de leucocitos adyacentes a las zonas de alta compresión. Esto sugiere que, en el ligamento periodontal, una densa acumulación de células inflamatorias conduce a la destrucción del tejido, como se ve en los procesos inflamatorios generales. Las áreas de alto estrés tenían 4 veces o más RRAE en comparación con las zonas de baja tensión. En las áreas de mayor estrés, la falta de P2X7R (y en consecuencia IL-1 β) causa un aumento del 20% de RRAE. Viecilli RF y cols. concluyeron en su estudio que la falta del gen P2X7R (en los ratones KO) contribuyó a la eliminación más lenta del tejido hialinizado. La RRAE y el metabolismo del tejido hialinizado están mediados por la vía mecanotransducción ATP-P2X7-IL-1 β . Y la ausencia del gen P2X7R causó un incremento de la RRAE en el modelo de ratón.³⁴⁰

También se ha descrito, como hemos mencionado anteriormente que la interleuquina tiene un papel clave en relación a la RRAE. La Interleuquina-1(IL-1) existe en dos formas, α y β , de los que la IL-1 β , es la forma principalmente implicada en el metabolismo óseo, la estimulación de la reabsorción ósea, y la inhibición de la formación de hueso. IL-1 β también juegan un papel importante en el proceso inflamatorio. Las variantes genéticas en el gen de la IL-1 se han asociado con un mayor riesgo de experimentar RRAE tras el tratamiento de ortodoncia. Los sujetos homocigotos para el alelo 1(1/1) del gen *IL1B* (3594 T) y los genes de la interleuquina-1 α (IL-1 α), condicionan a un aumento de la predisposición genética a experimentar RRAE en dientes vitales tras el tratamiento de ortodoncia.^{196,243} Polimorfismos adicionales fueron mapeados en el grupo de genes *IL1B* y una asociación directa se descubrió también, en diferentes poblaciones, entre un

polimorfismo de un solo nucleótido en el gen *IL1A* (-899) y RRAE.²⁴⁴

Incluso en los dientes endodonciados, clara evidencia también se ha ofrecido recientemente de que el polimorfismo IL-1 β en la posición +3954 ejerce una influencia directa en una mayor susceptibilidad a la RRAE.^{341,342}

La interleuquina-1 es una de las primeras citoquinas implicadas en la inflamación durante el movimiento dental, y el tejido de la pulpa es un secretor importante de esta proteína.³⁴³

La interleucina-1 permite que el ambiente proinflamatorio se mantenga una vez que la inflamación ha sido iniciada por la mejora de la concentración y la trans migración de leucocitos, un requisito previo para que el movimiento dental tenga lugar.³⁴⁴

La IL-1 β , como venimos describiendo, es responsable de una amplia gama de acciones, con el fin de mediar en las respuestas inflamatorias en el huésped. Puede ser producido y puesto en libertad por muchos tipos de células diferentes, y se ha descrito que se encuentra activa en los tejidos de la pulpa dental o en cultivos celulares.^{344,346}

La interleuquina-1 β (IL-1 β), y la interleuquina-6 (IL-6) son capaces de aumentar la actividad del RANKL, que conduce a la regulación positiva de la osteoclastogénesis.^{347,348} IL-1 β y IL-6 también son capaces de regular la osteoclastogénesis independiente de RANKL actuando directamente sobre los osteoclastos.³⁴⁸⁻³⁵¹

1.2.3.2. RANK/RANKL/OPG

La interacción entre RANKL y su receptor RANK inicia la actividad y la diferenciación de los osteoclastos, aumentando la reabsorción. Del mismo modo, los efectos de RANKL tanto in vivo como in vitro son inhibidos por la osteoprotegerina (OPG), una proteína circulante que pertenece a la superfamilia de receptores de TNF.^{22,161}

Cuando OPG y RANK se unen entre sí, la unión entre RANK y RANKL se inhibe, y por lo tanto la diferenciación osteoclástica también se inhibe. Por esta razón OPG, RANK y RANKL son importantes reguladores de la osteoclastogénesis.¹²³

Los odontoclastos son células multinucleadas, responsable de la reabsorción de los tejidos duros dentales. Estas células son morfológicamente y funcionalmente similares a los osteoclastos.^{352,353} Ambos odontoclastos y osteoclastos son de origen hematopoyético. El Factor estimulador de colonias de Macrófagos (M-CSF) desempeña un papel esencial en la proliferación y diferenciación de los osteoclastos y de sus progenitores.^{354,355}

Otro factor que también es esencial para la diferenciación y activación de osteoclastos

es el RANKL (ligando receptor del activador del factor nuclear kappa beta).^{175,356} Osteoblastos y células madre estromales expresan el receptor RANKL, que se une a su receptor activador RANK en la superficie de los osteoclastos y sus precursores. Este regula la diferenciación de los precursores en osteoclastos multinucleados y activación de los osteoclastos, así como la supervivencia de ambos y está asociado con el aumento de la resorción ósea.³⁰⁰ Ambos, M-CSF y RANKL, son necesarios para inducir la expresión de genes que son esenciales para el compromiso de los progenitores de los osteoclastos. Estos genes incluyen los de codificación para la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP), la catepsina K, el receptor de la calcitonina, y la integrina-3, lo que lleva al desarrollo de los osteoclastos maduros. La presencia de estos marcadores también se ha identificado en odontoclastos.^{21,357,358}

El RANK y su ligando RANKL se han localizado en odontoblastos, fibroblastos de pulpa, fibroblastos del ligamento periodontal, y en odontoclastos.^{359,360}

La osteoclastogénesis es modulada por la osteoprotegerina (OPG), un miembro de la superfamilia de receptores de TNF que inhibe la osteoclastogénesis impidiendo que el RANKL se una a su receptor RANK en la membrana de los osteoclastos. La osteoprotegerina (OPG, codificada por el gen TNFRSF11B) es secretada por los osteoblastos y células madre del estroma osteogénicas y protege de una excesiva reabsorción ósea mediante la unión a RANK y evitando la interacción con RANKL.³⁶¹

El sistema OPG/RANKL/RANK es un mediador clave en la osteoclastogénesis. OPG, RANKL y RANK también han sido identificados en odontoclastos activados durante la reabsorción de los dientes de leche.^{359,362}

TNFRSF11B (osteoprotegerina) desencadena un aumento significativo en los osteoclastos y menor densidad mineral ósea.^{363,364} Se ha descrito que los aumentos en la producción de OPG inhiben el movimiento dental ortodóncico en ratas con una disminución de los osteoclastos.^{365,366} Además, la OPG se asocia con RR fisiológica y patológica.^{362,367} Más evidencias de que la vía RANK/RANKL/OPG estar involucrado con la RRAE fue determinada en un estudio clínico que incluyó el gen TNFRSF11B (OPG).³⁶⁸

La Osteólisis expansiva familiar (FEO, OMIM no. 174810) es un trastorno autosómico dominante óseo raro, caracterizada por lesiones osteolíticas, que se desarrollan por lo general en los huesos largos durante la edad adulta temprana, y también puede dar lugar a la reabsorción espontánea de los dientes y pérdida de la dentición. FEO es causada por

mutaciones en el gen TNFRSF11A que codifica RANK.³⁰³ Sobre la base de esta condición y la importancia de la vía RANK/RANKL/OPG en el control de la activación de los osteoclastos, TNFRSF11A (RANK) es un gen candidato para desencadenar RRAE. Estos fueron los primeros datos genéticos que se obtuvieron en el estudio clínico realizado por Al-Qawasmi y cols., quienes sugirieron que la vía de RANK/RANKL/OPG puede ser un factor desencadenante en algunos pacientes con RRAE.²⁴⁸

Otras citoquinas que regulan la actividad y la función de los osteoclastos son: factor de crecimiento transformante alfa (TGF- α), interleuquina-1 beta (IL-1 β), y la interleuquina-6 (IL-6). Estas tres citoquinas proinflamatorias son capaces de aumentar la actividad de RANKL que conduce a la regulación positiva de la osteoclastogénesis.^{347,348,369} Son capaces también de regular la osteoclastogénesis independiente del RANKL, actuando directamente sobre los osteoclastos.^{348-351,370}

El descubrimiento de la función del RANK, RANKL y la OPG en la osteoclastogénesis, ha proporcionado importantes avances en la biología del hueso.^{371,372} RANK, un miembro de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral (TNFRSF), es un activador central de NF- κ B, que controla la transcripción de ADN, y es el receptor de señalización para RANKL. RANKL es una proteína homotrimérica y esta típicamente unida a la membrana osteoblástica y a células T activadas. RANKL se une a RANK en la superficie preosteoclastica y estimula el desarrollo y la activación de los osteoclastos. OPG, también conocida como miembro de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral 11B (TNFRSF11B), es secretada por muchos tipos de células, además de los osteoblastos.^{373,374} OPG es un receptor que inhibe la interacción pro-osteoclastogénica entre RANKL y RANK, lo cual inhibe la resorción ósea.³⁷³⁻³⁷⁵

Por lo tanto, el equilibrio entre la OPG y RANKL regula la reabsorción y la formación ósea.³⁷⁶⁻³⁷⁸ Desequilibrio del sistema de RANKL/OPG han sido implicados en la patogénesis de diversos tumores malignos primarios y secundarios del hueso.³⁷⁹ Por otra parte, pueden estar implicados en la regulación del sistema inmunológico, la calcificación arterial, y en un número de enfermedades metabólicas óseas.³⁷² Algunos estudios han examinado también las funciones de los factores de regulación de osteoclastos en la progresión de las lesiones odontogénicas.³⁸⁰⁻³⁸³

1.2.3.3. Osteopontina

La osteopontina (OPN) es una proteína estructural extracelular y por tanto, un

componente orgánico del hueso. Sinónimos de esta proteína incluyen sialoproteína I y 44K BPP (fosfoproteína ósea). Aunque la primera vez que se detectó fue en el hueso, se ha encontrado en la mayoría de los tejidos mineralizados, incluyendo en el cemento radicular, en el que existe una abundante cantidad de OPN.^{384,385}

La OPN se ha implicado como un factor importante en la remodelación ósea.^{386,88} Específicamente, la investigación sugiere que desempeña un papel en el anclaje de los osteoclastos a la matriz mineral de los huesos.³⁸⁷ La OPN es un tipo de molécula, que interviene directamente en la adhesión de los osteoclastos a la superficie ósea,³⁸⁷⁻³⁸⁹ así como en la adhesión de los odontoclastos a la superficie radicular.^{390,391}

La parte orgánica del hueso es de aproximadamente 20% del peso en seco, y que cuenta con, aparte de la osteopontina, colágeno tipo I, osteocalcina, osteonectina, hueso Sialo proteína y fosfatasa alcalina. El colágeno tipo I constituye el 90% de la masa de proteínas. La parte inorgánica del hueso es la hidroxiapatita mineral, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. La pérdida de este mineral puede conducir a la osteoporosis, ya que el hueso queda sin calcio, si este no se suministra en la dieta.

La OPN sirve para iniciar el proceso por el cual los osteoclastos desarrollan sus contornos erizadas para comenzar la reabsorción ósea.³⁸⁹ Se han encontrado proteínas de la matriz extracelular como la osteopontina y la sialoproteína ósea en las zonas de reabsorción, las cuales parecen actuar como señales químicas para la adhesión selectiva de los odontoclastos a la superficie radicular.³⁹²

Chung CJ y cols., demostraron en su estudio que la deficiencia de OPN suprimía significativamente el aumento en el número de odontoclastos y suprimía la reabsorción de la raíz. Se informó de que la deficiencia de OPN específicamente disminuye o suprime la RRAE al aplicar fuerzas. Así pues, concluyeron que la presencia de OPN en el cemento radicular incrementaba la reabsorción radicular llevada a cabo por los odontoclastos.³⁹³ Jiménez y cols. encontraron resultados similares en los seres humanos.³⁹⁴ Así pues, este estudio concluyó que, además de darse la reparación del cemento radicular durante movimientos ortodóncicos de rotación, la OPN juega un papel importante tanto en la reabsorción radicular, como en su reparación.

Estos hallazgos podrían demostrar la importancia de la osteopontina en la activación de los odontoclastos y como factor clave en la ruta de activación o proceso de capacitación para inducir la RRAE.³⁹³

Iglesias Linares y cols. en su estudio llevado a cabo en el 2013 determinaron que existe un indicio de evidencia de que la RRAE post-ortodóncica está asociada con

variaciones genéticas a nivel de la OPN (89253600) en humanos. Por lo tanto, heredar el alelo específico del gen de la osteopontina rs11730582 podría ser un factor de susceptibilidad genética a padecer RRAE en el grupo muestral analizado.³⁹⁵ Refieren que el gen de la Osteopontina (rs9138 and rs11730582) podría ejercer influencia en la predisposición genética a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.³⁹⁵

1.2.3.4. Factores de crecimiento insulínico dependientes (IGF-I y II)

Son proteínas con una alta similitud de secuencia con la insulina. IGFs representan una familia de polipéptidos endocrina, paracrina, y factores de crecimiento autocrinos actuando y controlando el desarrollo y crecimiento pre y postnatal. En general, los ligandos IGF, IGF-I y IGF-II están implicadas en varios procesos celulares, incluyendo la diferenciación, la proliferación, la morfogénesis, el crecimiento, el control de funciones metabólicas, y la carcinogénesis.³⁹⁶⁻³⁹⁸

IGF-I es parte de la hormona del crecimiento (GH)-IGF-I en la que GH estimula la síntesis de IGF-I en varios órganos por los mecanismos de retroalimentación negativa,^{399,400} mientras que IGF-II se cree que juega un papel importante sobre todo durante el desarrollo prenatal. IGFs se unen a receptores específicos. El receptor de tirosina quinasa de IGF-1 receptor (IGF1R) media la mayoría de las acciones de IGF.⁴⁰¹

La hormona del crecimiento y los factores de crecimiento similares a la insulina juegan un papel crítico en el desarrollo del esqueleto. La hormona del crecimiento participa en la regulación del crecimiento esquelético y provoca la liberación del factor de crecimiento similar a la insulina en las células diana. Los factores de crecimiento similares a la insulina se unen a proteínas de unión, la adición de otro nivel crucial para modular la actividad del factor de crecimiento similar a la insulina. Dos factores de crecimiento similares a la insulina han sido identificados; IGF-I y IGF-II, ambos se encuentran en alta concentración en el suero. En el hueso, IGF-II es más abundante, pero el IGF-I puede ser más potente, aunque esto podría ser diferente según las especies.⁴⁰²

La regulación del factor de crecimiento similar a la insulina es compleja, y el modo de acción de la hormona de crecimiento en las células esqueléticas es en gran parte desconocido. Factores de crecimiento similares a la insulina aumenta la proliferación y juegan un papel importante en la estimulación de la función de los osteoblastos maduros. Al igual que con otros factores de crecimiento, la forma en que los osteoblastos responden a las señales del factor de crecimiento similares a la insulina puede depender tanto de el

estadio de diferenciación del tipo celular, como de la célula.⁴⁰³ Aunque es ampliamente aceptado que los factores de crecimiento similares a la insulina tienen un papel decisivo en la remodelación ósea, su papel actual todavía no está claro y debe ser entendida dentro de las complejas interrelaciones de los componentes del sistema de factor de crecimiento similar a la insulina que se producen, evidentemente, *in vivo*. En general, la evidencia sugiere que los principales efectos de los factores de crecimiento similares a la insulina son promover la diferenciación en la última etapa y la actividad de los osteoblastos.

Durante las etapas tempranas de la reparación, la aparición de varios componentes (por ejemplo, IGF-II, IGFBP-5 o -6) dentro de lagunas y en cementoblastos mostró una implicación en la secuencia de reabsorción-reparación, que se considera que es un proceso de acoplamiento en el hueso.³⁹⁶

Las diferencias interindividuales durante el movimiento dental, podrían contribuir a la susceptibilidad en relación con la reabsorción radicular externa.²⁹⁰

La reabsorción radicular externa producida durante el tratamiento ortodóntico se caracteriza por la síntesis de prostaglandina E2, la cual juega un papel importante como mediador de la reabsorción y remodelación ósea inducida por estrés mecánico, disminuyendo la síntesis de colágeno e incrementando el AMPc.⁴⁰⁴

Sin embargo autores como Miravella A. y cols. dicen que por años se ha sugerido que la cantidad y tipo de movimiento dentario eran el mayor determinante de la reabsorción radicular, pero en esos estudios emplearon muestras pequeñas. Su estudio es el primero en establecer la relación entre el movimiento y la reabsorción apical de la raíz en pacientes que no están en crecimiento. Se confirmó la hipótesis de que el movimiento de la raíz en dirección anterior o posterior está asociada con reabsorción apical.⁴⁰⁵

En la literatura se pueden encontrar diferentes opiniones sobre el nivel de fuerza óptimo que se debe aplicar en el ligamento periodontal durante el movimiento de ortodoncia. Con un nivel de fuerza óptimo se logrará una adecuada respuesta biológica en el ligamento periodontal. También se ha sugerido que el nivel de fuerza óptimo dependerá de la cantidad de superficie radicular.⁴⁰⁶⁻⁴⁰⁸

1.3. GENÉTICA

1.3.1. Conceptos generales

La genética es la rama de la medicina que estudia el papel que desempeñan los factores hereditarios y genéticos respecto de una enfermedad, un defecto congénito o la susceptibilidad heredada para ciertos problemas de salud.

Existe riesgo de nacer con un defecto congénito. La mayoría de los defectos congénitos no están bajo nuestro control ni tampoco se originan por una acción o negligencia de los padres antes o durante el embarazo.

Existe una posibilidad del 3 al 4% de que nazca un niño con algún tipo de defecto congénito o problema de salud.⁴⁰⁹

1.3.2. Genoma humano, ADN y variaciones genéticas

El Proyecto del Genoma Humano comenzó en 1990 con el objeto de trazar un mapa que represente la ubicación de todos los genes de los cromosomas. Este logro monumental ha dado los cimientos básicos sobre los cuales los científicos determinarán cuál es el origen de las enfermedades, de qué manera se deben tratar dichas enfermedades y, por último, cómo se las debe prevenir.⁴¹⁰

El conjunto de todo el ADN de un organismo se conoce con el nombre de genoma. El genoma humano comprende aproximadamente 50.000 genes distintos y 3.200 millones de pares de bases de ADN distribuidos en 23 cromosomas, cada uno de los cuales se encuentra presente por duplicado en nuestras células, a excepción de las células sexuales que sólo poseen un juego de cromosomas. Cada gen tiene una posición determinada y fija en una zona dada de un cromosoma dado, y dirige, como ya se ha dicho, la síntesis de una proteína que tiene un papel preciso en el funcionamiento del organismo.^{409,410}

El genotipo es la constitución genética de un organismo, es decir, la de un individuo de una especie dada. El término puede ser considerado en sentido general, como el conjunto de los alelos presentes en todos los loci de todos los cromosomas del individuo. Sin embargo a efectos prácticos se suele considerar el genotipo para un locus particular, con lo que el genotipo de un individuo viene definido por los dos alelos presentes en ese locus en ambos cromosomas homólogos, de entre los múltiples alelos posibles para el locus en la población de esa especie. Se define fenotipo como la manifestación externa del

genotipo, es decir, el conjunto de rasgos o caracteres observables (morfológicos, bioquímicos o moleculares), resultantes de la expresión del genotipo; esto incluye la interacción entre los dos alelos y el efecto del medio ambiente. Al igual que el genotipo, el término se refiere tanto a un individuo concreto como a un carácter o grupo de caracteres de dicho individuo.⁴¹¹

En cada organismo la fuente esencial de la información biológica son los ácidos nucleicos. La forma y las actividades de las células están determinadas en gran medida por las instrucciones genéticas contenidas en el ADN (o el ARN en ciertos virus). De acuerdo con el dogma central de la Biología molecular, la secuencia de las bases nucleotídicas del ADN codifican para la secuencia de aminoácidos (aa) de las proteínas. Muchas de las proteínas celulares son enzimas que catalizan los procesos metabólicos dentro del organismo. Otras proteínas tienen un papel estructural o regulador, o participan en el mantenimiento y la transmisión de la información genética.⁴¹²

El ADN es una doble hélice, entrelazada y sumamente larga que almacena información genética. Sus componentes se ordenan con una relación química específica, lo que determina la estructura tridimensional del ADN del cual derivan consecuencias funcionales.⁴¹³ El ADN contiene la información hereditaria necesaria para el funcionamiento de todos los organismos vivos.

Los ácidos nucleicos son macromoléculas que conforman las subunidades de las cadenas de ADN y ARN, y son clave en el almacenamiento y transmisión de la información genética. Participan en numerosos procesos biológicos, transportan energía, son parte de coenzimas esenciales y regulan numerosas funciones metabólicas. Los nucleótidos están compuestos por tres partes integrales: Fosfatos, azúcares y bases púricas o pirimídicas. Las bases nitrogenadas pueden ser adenina (A), guanina (G), timina (T), o citosina (C). Sus cadenas se unen entre sí por las bases nitrogenadas mediante puentes de hidrógeno, de manera que la A sólo puede unirse con la T, y la G con la C. Dado que una molécula de ADN puede tener miles de nucleótidos de largo, es posible obtener una gran variedad de secuencias de bases diferentes, y la variedad es uno de los requisitos primarios del material genético.⁴¹³

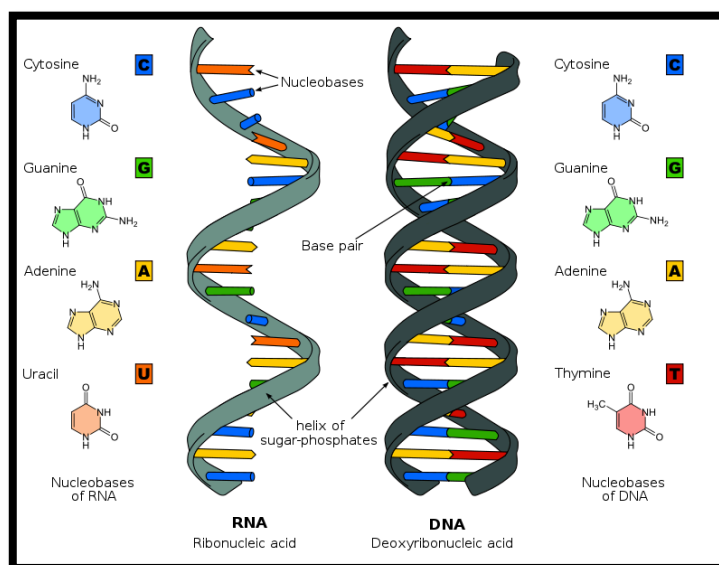


Figura 24. Estructura esquemática del ARN y del ADN. Tomada de <http://maestroviejo.files.wordpress.com/2012/05/arn-adn.png>⁴¹⁴

Por lo tanto, mientras que la secuencia de la primera cadena no responde a ningún orden establecido, el orden de los nucleótidos de la cadena complementaria está condicionado por la secuencia de la primera. El orden o secuencia en el que se suceden los nucleótidos a lo largo de esta molécula determina el mensaje genético. El ADN se encuentra organizado en cromosomas, situados en el núcleo de cada célula del organismo humano. La unidad biológica elemental de los cromosomas, portadora de la información a la cual se deben los caracteres hereditarios, son los genes. Los genes constan de una secuencia de nucleótidos específica que determinará cómo y cuándo se han de sintetizar las proteínas. De media, cada gen contiene 3.000 nucleótidos, aunque esta cifra puede variar mucho.⁴¹³

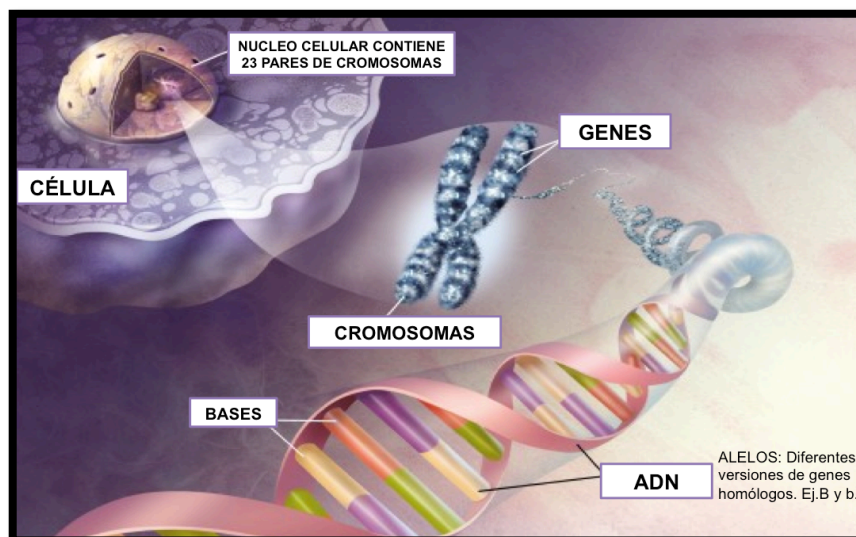


Figura 25. Representación de la unidad celular, cromosoma, ADN. Modificada de <http://humanidadindependiente.files.wordpress.com/2013/05/celula-y-adn.jpg>⁴¹⁵

En cada división celular se separan las dos cadenas del ADN, y a partir de cada una de ellas se origina una nueva cadena complementaria siguiendo el carácter de complementariedad. Así, se obtiene una copia exacta de la molécula de ADN con sus dos cadenas, resultando en dos moléculas de ADN idénticas. De este modo se asegura que la información contenida en la molécula de ADN se transmita fielmente de célula a célula.

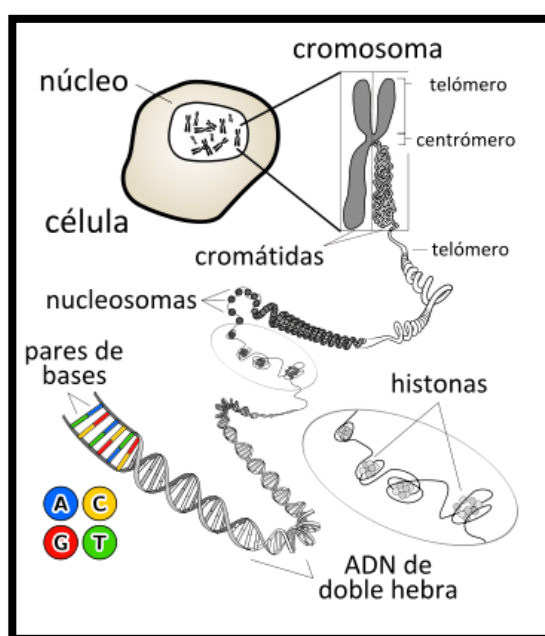


Figura 26. Representación de la unidad celular, cromosoma, ADN.

Tomada de
http://www.nosabesnada.com/uploads/2012/09/350px-Chromosome-es.svg_.png⁴¹⁶

Una variación genética es una diferencia en la secuencia de ADN entre individuos, grupos o poblaciones que tiene una frecuencia de al menos un 1% en la población.⁴¹⁷ Los polimorfismos genéticos son la base de la evolución y los que se consolidan pueden ser silentes, proporcionar ventajas a los individuos o causar enfermedades.⁴¹⁷ Estas variantes se conocen como alelos, y generalmente producen variaciones en las características hereditarias tales como el color de los ojos o el grupo sanguíneo. El hecho de tener el material genético duplicado, mitad materno y mitad paterno, hace que cada gen posea dos alelos. Los individuos que posean los dos alelos iguales se conocen con el nombre de homocigotos, mientras que aquellos que poseen los dos alelos diferentes se denominan heterocigotos.^{410,418}

La secuencia del genoma humano es idéntica en un 99,9% de la población, por lo que sólo el 0,1% del genoma da lugar a polimorfismos y produce la gran variabilidad existente

entre individuos. Los polimorfismos que ocurren con una frecuencia inferior al 1% de la población se denominan mutaciones y generalmente tienen un efecto patológico. La evolución ha empleado los polimorfismos como mecanismo básico para generar nuevos rasgos.⁴¹⁹ Los polimorfismos de un nucleótido ocurren cuando se produce el cambio de un nucleótido por otro.

Aproximadamente 1 de cada 1000 pares de bases del genoma humano difieren entre dos cromosomas homólogos y algunos estudios realizados en distintas poblaciones alrededor del mundo estiman la aparición de variaciones genéticas cada pocos cientos de pares de bases. Se calcula que en el genoma humano hay unos 3 millones de polimorfismos simples, constituyendo aproximadamente el 90% de todos los polimorfismos existentes.⁴²⁰ Este tipo de polimorfismos aparecen tanto en regiones codificantes como en no codificantes, y 2 de cada 3 sustituyen una C por una T. Existen varios tipos de variaciones en el genoma: de un único nucleótido, repeticiones de secuencias, inserciones o deleciones pudiendo afectar a un único par de bases o a cientos.⁴²¹

Las variaciones de un único nucleótido constituyen el 90% de los polimorfismos genéticos en el genoma humano. Existen dos tipos de sustituciones en los nucleótidos que pueden dar como resultado este tipo de modificaciones: transición y transversión. En la sustitución por transición tiene lugar el cambio entre bases púricas (A, G) o pirimidínicas (C, T) y constituyen 2/3 del total de las variaciones de nucleótido simple. En la transversión se produce una sustitución entre una base púrica y una pirimidínica.⁴²²

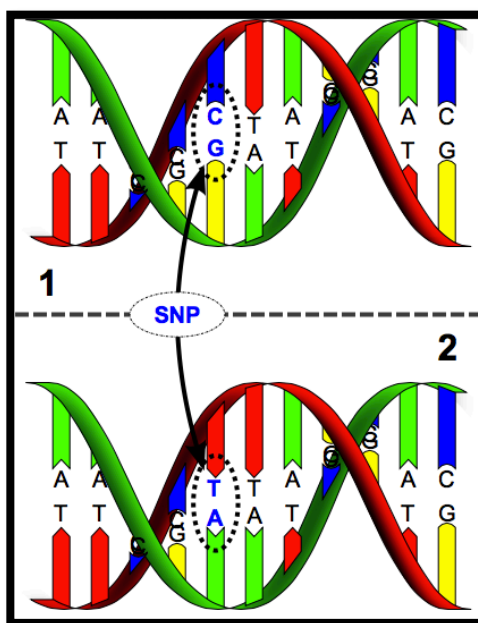


Figura 27. Polimorfismo. Sustitución por transversión. Tomada de <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2e/Dna-SNP.svg>⁴²³

Estos tipos de variaciones no se encuentran uniformemente distribuidas en el genoma humano completo, en los cromosomas o dentro de un mismo cromosoma. Se ha demostrado que la variación de la secuencia de ADN para los cromosomas sexuales es mucho menor. Por otra parte, pueden encontrarse en regiones de codificación proteica o en regiones de regulación no codificantes. Este tipo de variaciones en la región codificante puede resultar en un polimorfismo sinónimo o silente no causando cambio alguno en la secuencia proteica; o bien con repercusión en la secuencia aminoacídica y por lo tanto en la proteína resultante con un cambio de codón. Esta última recibe el nombre de no sinónimo. Si el cambio de un único nucleótido ocurre en una zona codificante puede provocar un cambio de aminoácido en la proteína resultante, y esto puede resultar en una modificación de su actividad o función. Los cambios también pueden modificar su expresión afectando a la cantidad y/o tiempos de producción de una determinada proteína. En otras ocasiones, probablemente la mayoría, los cambios son silentes y no tienen repercusiones funcionales.⁴²⁴

1.4. FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF- β)

1.4.1. Estructura

Al Factor de Crecimiento Transformante (TGF) se le nombró de esta forma ya que se aisló por primera vez en tejidos que contenían células con transformación maligna, en concreto, de sarcomas. En el comienzo, sólo se podían extraer de tejidos transformados. Era un factor que promovía la transformación de los fibroblastos en cultivo celular, la acción del TGF sobre estas células provocaba la alteración de su fenotipo, transformándolas en tumorales.⁴²⁵

Podemos distinguir entre el TGF- α y el TGF- β . El Factor de Crecimiento Transformante α (TGF- α) está estrechamente relacionado con el EGF (Epidermal growth factor), estos factores tienen en común un 42% de la secuencia aminoacídica de la que están formados. Realizan su unión a los mismos receptores estableciéndose competencia.

Su gen está localizado en el cromosoma 2. Su peso molecular es de 5,6Da. Y se sintetiza como un precursor de 160 aminoácidos, aunque la parte activa sólo consta de 50 aminoácidos.⁴²⁵

El Factor de Crecimiento Transformante- β (TGF- β), son una superfamilia de proteínas muy abundantes en el tejido óseo (los segundos, tras los IGF). Están presentes en la matriz en forma latente y se activan durante la reabsorción osteoclástica.⁴²⁶ El TGF- β , es un dímero formado por dos subunidades de 112 aminoácidos, unidas por puentes disulfuro. Su peso molecular es de 25 kDa. El gen correspondiente se ha localizado en el brazo largo del cromosoma 19. Y pertenece a la superfamilia de proteínas que incluye TGF- β 1 hasta TGF- β 6 y proteínas morfogenéticas entre otras.⁴²⁷ Fue descrito inicialmente en células que presentaban transformación maligna (sarcomas). Es una superfamilia que se detecta en el hematoma de fractura en las primeras 24 horas. Y como he descrito anteriormente presenta 6 isoformas; TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4, TGF- β 5 y TGF- β 6, pero las forma β 1 y β 2 han sido las más investigadas, por lo que de manera general se refiere de manera conjunta las 2 isoformas como el TGF- β .⁴²⁸

Los TGF- β 1 y TGF- β 2 se encuentran en las plaquetas principalmente y también en los macrófagos, linfocitos, neutrófilos, MSCs, osteoblastos (que lo producen con un efecto autocrino) y la matriz ósea.⁴²⁸

El TGF- β 1 es un regulador de las actividades celulares con múltiples efectos biológicos, cuya identificación ha permitido entender los mecanismos por los cuales las funciones celulares están reguladas en la salud y alteradas en la enfermedad.⁴²⁹⁻⁴³¹ Es sintetizado por muchas estirpes celulares como linfocitos, fibroblastos, macrófagos, miocitos, astrocitos, condrocitos, células epiteliales, células del riñón, células de placenta y plaquetas, así como por algunas células tumorales, y su expresión regula de manera autocrina o paracrina la diferenciación, proliferación y el estado de activación de éstas y muchas otras células. En general, el TGF- β 1 tiene propiedades pleiotrópicas en la respuesta inmune durante el desarrollo de infecciones y procesos neoplásicos; aunque, los mecanismos de acción y regulación de la expresión de este factor de crecimiento aún no se comprenden del todo.⁴³² El TGF- β 1 se trata de una proteína de 25 kDa. Es liberado de la región C-terminal de un dímero disulfuro de pro-TGF- β por una proteasa convertasa. Es normalmente secretado en forma latente o inactiva.

Existen 2 tipos de complejos latentes, uno pequeño, formado por el TGF- β 1 unido de forma no covalente a un dímero disulfuro de la parte N-terminal de proTGF- β 1, denominado LAP (péptido asociado a latencia). Y otro grande, el cual contiene una

proteína de unión al TGF- β latente (LTBP) unida por puente disulfuro a LAP. Las proteínas de latencia contribuyen a la estabilidad del TGF.

La vida media del TGF- β 1 libre es de aproximadamente de 2 minutos mientras que el TGF- β latente tiene una vida media de 90 minutos.

Para ejercer su acción se requiere la liberación del TGF- β 1 del complejo latente.⁴³³

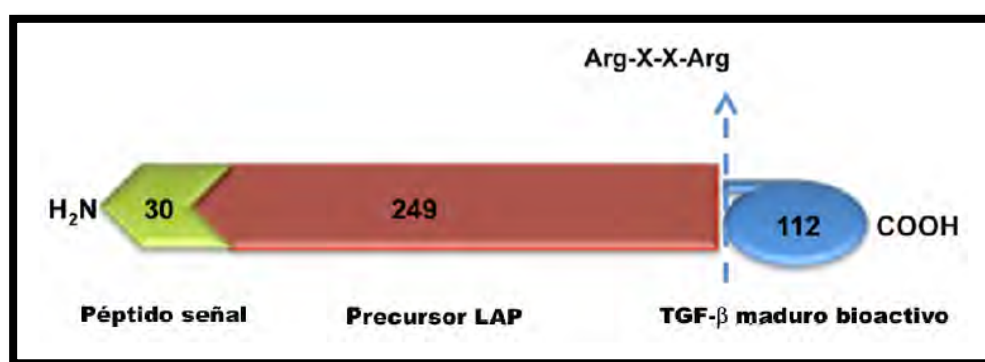
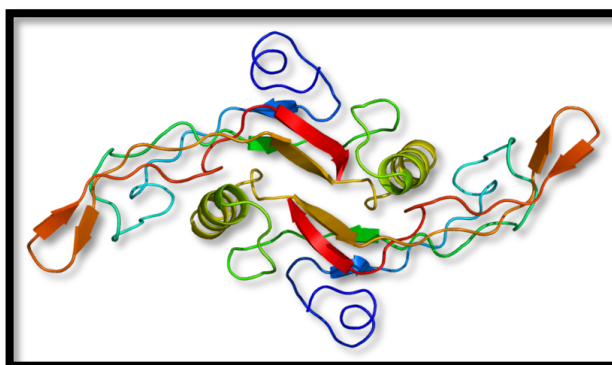
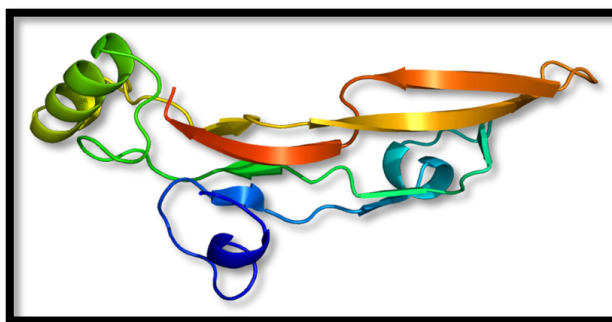


Figura 28. Representación de la estructura del pro TGF- β . Presenta una región N - terminal hidrofóbica que actúa como péptido señal (30 aminoácidos), la región del péptido asociado de latencia (LAP) (249 aminoácidos) y el C - terminal (112 aminoácidos), que se corresponde con la región madura bioactiva del TGF- β . El punto de ruptura entre el factor maduro y el LAP corresponde a una secuencia que incluye dos argininas separadas por dos aminoácidos. Tomada de Tandon y cols, 2010.⁴³⁴

Su forma latente es un complejo formado por la unión del péptido maduro y el precursor del TGF- β 1 (péptido asociado a latencia LAP),⁴³⁵ por lo que es sintetizado como una molécula pre-pro-TGF- β 1 de aproximadamente 390 aa, con una secuencia señal de 29-30 aa, la cual es liberada para producir pro-TGF- β 1. La forma madura del TGF- β 1 comprende una secuencia de 112 a 114 aa de la región C-terminal, la cual es liberada de pro-TGF- β 1 por rompimiento en un sitio dibásico en el aa 278.⁴³⁵ La forma activa del TGF- β 1 está constituida por dímeros de 25 kDa, que en condiciones de reducción generan monómeros de 12,5 kDa.

Las isoformas TGF- β 1, 2 y 3 comparten una alta homología de secuencia de aminoácidos, presentan distintos patrones de expresión y sus funciones son mediadas por los mismos receptores.⁴³⁶

Figura 29. TGF- β 1.Tomada de http://es.wikipedia.org/wiki/TGF-beta_1 ⁴³⁸Figura 30. TGF- β 2.Tomada de http://es.wikipedia.org/wiki/TGF-beta_1 ⁴³⁸

Las isoformas 1, 2, y 3 se localizan codificadas en los cromosomas humanos 19q13, 1q41 y 14q24,^{435,441} mientras que las isoformas 4 y 5 se han encontrado presentes en aves y en anfibios, respectivamente. El TGF- β 1 y el TGF- β 2 son sintetizados por muchos tipos celulares, como hemos mencionado anteriormente, mientras que el TGF- β 3 es expresado por células mesenquimales.⁴³⁵ Existe una homología de 70% de aminoácidos entre los TGF- β 1 y TGF- β 2, y de 79% entre los TGF- β 2 y TGF- β 3.

El TGF- β 1 presenta una estructura tridimensional que comienza en el extremo N-terminal con una cadena α hélice (α 1), seguida por una cadena β -plegada (β 1) y una cadena β -plegada antiparalela irregular. Le continúa una segunda cadena α -hélice (α 2) y un asa larga con numerosos contactos hidrofóbicos. Se continúa con una segunda cadena β -plegada (β 2), otra asa larga y una tercera cadena α -hélice (α 3), la cual termina con un giro β tipo II y un asa larga. El extremo C-terminal de la molécula constituye una estructura β antiparalela extensa con un giro β tipo II. Las cadenas β 3, β 4, β 5, β 6 y β 7 plegadas se forman por apareamiento de los residuos intercatenarios del extremo C-terminal de la proteína.⁴³⁹

1.4.2. Receptores del TGF- β

Han sido identificados cinco tipos diferentes de receptores para el TGF- β , estos son, los receptores funcionales, como son el tipo I (T β RI de 53 a 65 kilodaltones-kDa-), y el tipo II (T β RII de 83 a 110 kDa). Y los receptores no funcionales que incluyen el tipo III (T β RIII de 250 a 310 kDa), el tipo IV (T β RIV de 60 kDa) y el tipo V (RV de 400 kDa).⁴⁴⁰

La mayoría de las células neoplásicas y todas las células normales, tienen receptores en su superficie para el TGF- β 1. Los receptores RI y RII son los responsables de los efectos biológicos de TGF- β 1 en las células de mamíferos; sin embargo, los receptores RIII, constituidas por los betaglicanos y la endoglina, son también capaces de unirse a TGF- β 1.⁴⁴¹

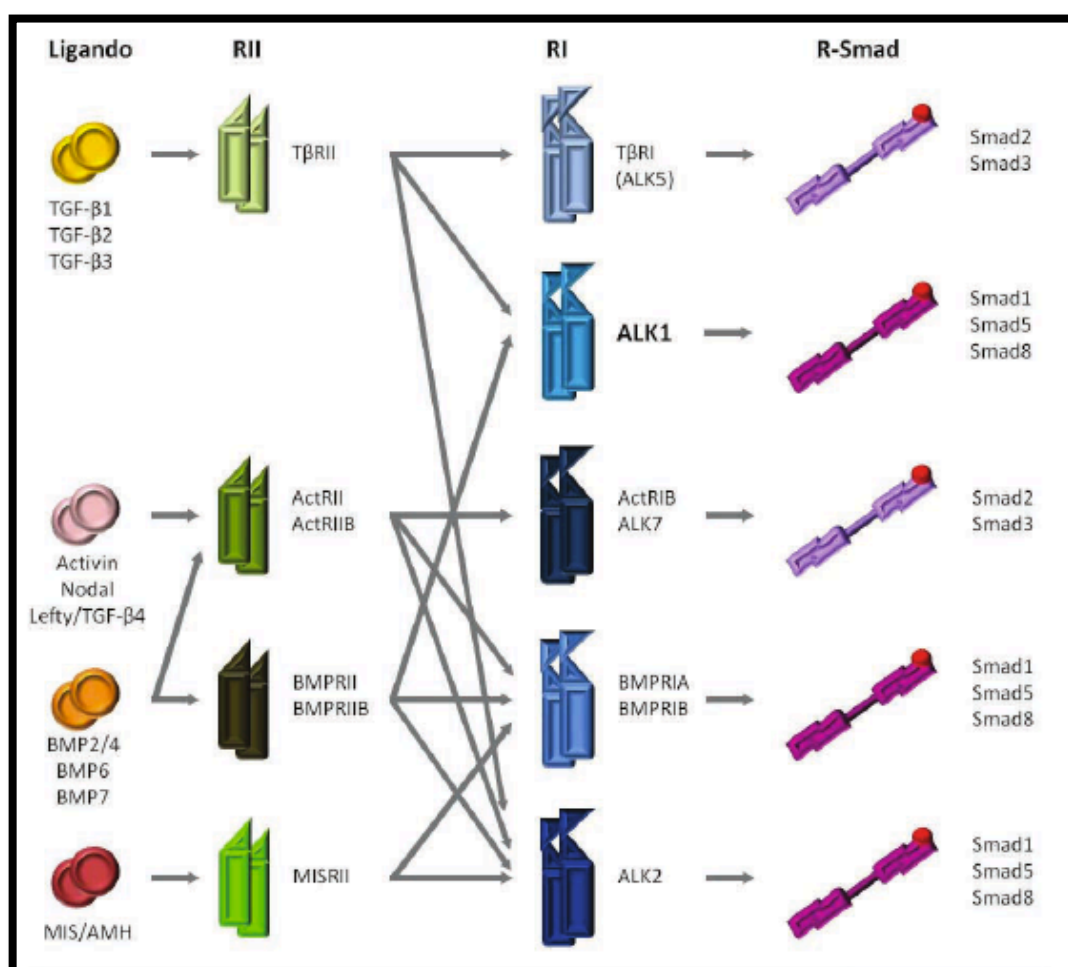


Figura 31. Combinaciones heteroméricas de los receptores de la superfamilia de TGF- β . Los ligandos de TGF- β se unen a combinaciones específicas de heterotetrámeros RI-RII en la superficie celular. En la imagen se muestran los ligandos y los receptores RI y RII que participan en cada vía de señalización. La activación de los factores de transcripción tipo Smad que ocurre como consecuencia de cada ruta se muestra a la derecha. MIS/AMS = Sustancia inhibidora Miilleriana/Hormona anti-Mülleriana. Modificada de Feng y Derynck. 2005.⁴⁴²

Los distintos miembros de la superfamilia del TGF- β realizan sus acciones mediante la unión a un complejo receptor que consta de dos receptores (tipo I y tipo II) con actividad Ser/T hr- quinasa. Hay seis receptores tipo II (RII) y siete receptores tipo I (RI) descritos hasta la fecha en mamíferos.⁴⁴³⁻⁴⁴⁵

En el caso del TGF- β el receptor tipo II es el TBRII y el receptor tipo I es TBRI/ALK5 (Activin receptor-like kinase-5). En las células endoteliales, el TGF- β puede señalizar, además, por ALK1, ya que ambos receptores tipo I (ALK5 y ALK1) se coexpresan en este tipo celular.⁴⁴⁶

Fue la identificación de diversas patologías vasculares, causadas por la presencia de mutaciones en los genes de receptores de TGF- β , los que indicaron que la señalización mediada por el TGF- β tiene una biología endotelial.^{447,448} No sólo es patogénica la mutación en los receptores, sino también aquéllas mutaciones que supongan un cambio en la disponibilidad de isoformas activas de TGF- β en el medio extracelular (mutaciones en las proteínas implicadas en la activación del propéptido, así como en proteínas de anclaje presentes en la matriz extracelular).

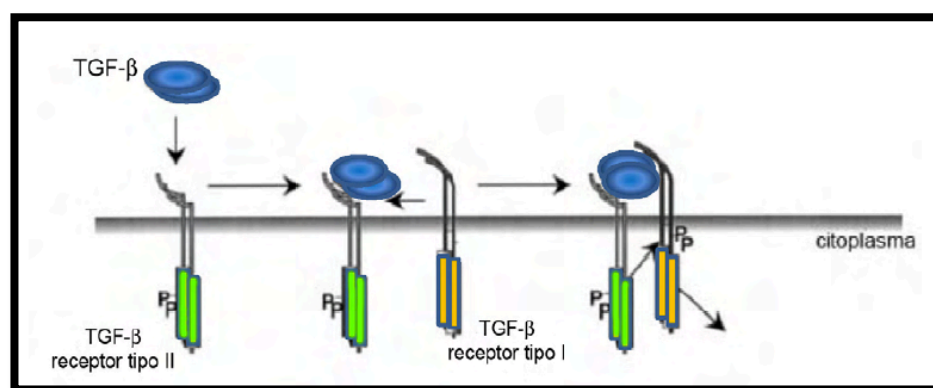


Figura 32. Se muestra la activación de los receptores de TGF- β . El ligando se une en el inicio al RII de TGF- β . Esto puede ser reconocido por el RI, que es reclutado al complejo. Posteriormente, el RII - quinasa activo fosforila y activa el RI de TGF- β , el cual propagará la señal. Adaptada de Dennler y cols., 2002.⁴⁴⁹

1.4.3. Ruta de señalización del TGF- β

El TGF- β se une a los receptores tipos I y II, este proceso está regulado por la unión del ligando a proteínas solubles del medio extracelular y por una modulación llevada a cabo por los correceptores o receptores tipo III (TBRIII) accesorios, endogлина y betaglicano.^{450,451}

Cuando el TGF- β que se encuentra circulando se une al dímero de membrana TBRII (que está constitutivamente activado por autofosforilación en residuos Ser-Thr), el dímero TBRI es enganchado al complejo y fosforilado por TBRII en residuos Ser, que son específicos en la región yuxtamembrana. Igualmente el correceptor (TBRIII, endogлина o betaglicano) se une a ellos y el complejo activo transduce la señal hacia el interior de la célula mediante las Smads (Sma y Mod-related). Las Smads que son reguladas por receptor (R-Smads) se encuentran en estado basal concentradas en el citoplasma y en las cercanías de la membrana gracias a su interacción con ciertas proteínas de anclaje, de estas proteínas de anclaje, la mejor caracterizada es la proteína SARA (*Smad anchor for receptor activation*).⁴⁵² La afinidad de la unión a SARA va disminuyendo gradualmente tras la fosforilación por TBRI en dos residuos serina del extremo carboxi-terminal de R-Smad, ya que estos residuos están implicados en la interacción entre ambas proteínas.

ALK5 actúa fosforilando Smad2 y Smad3, mientras que ALK1 es responsable de la fosforilación de Smad1, Smad2 y Smad3.⁴⁵³ Las R-Smads activadas forman un complejo con la Smad cooperadora (co-Smad), que en mamíferos es Smad4, y se trasladan al núcleo, donde regulan, junto con otras proteínas, la transcripción de genes específicos. Actuando como mecanismo regulador negativo, las Smads inhibidoras (I-Smads) Smad6 y Smad7 pueden inhibir la activación de las R-Smads mediante competición por los receptores tipo I y a través del reclutamiento de ubiquitina-ligasas o de fosfatasas específicas hacia el receptor activado, señalándolo para degradación proteosómica o defosforilándolo, respectivamente.⁴⁵⁴

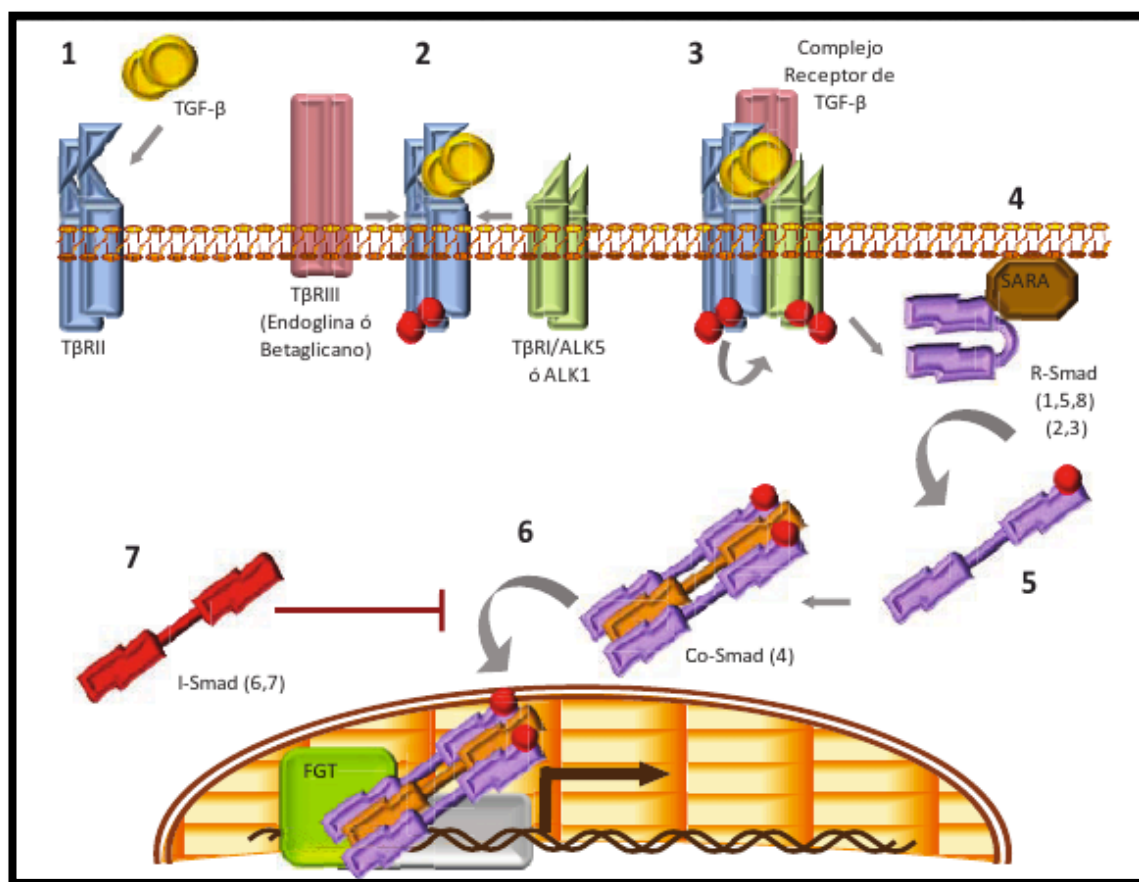


Figura 33. Representación esquemática de la señalización del TGF- β 1 desde la membrana hasta el núcleo de la célula endotelial. El TGF- β circula por el torrente sanguíneo y es captado en la membrana de la célula endotelial por el dimero de receptor tipo II (1) (T β RII), que se autofosforila en residuos Ser-Thr (2). Eso produce el reclutamiento del dimero de receptor tipo I (T β RI/ALK5 ó ALK1) y del correceptor endoglina o betaglicano (también conocido como T β RIII). La unión del ligando estabiliza la formación del complejo y el T β RII fosforila residuos Ser-Thr del dominio GS del T β RI, activando el complejo (3). Tras ello, las Smads dependientes de receptor (R-Smads), las cuales son atraídas a las inmediaciones de la membrana gracias a proteínas de anclaje como SARA (4), son fosforiladas en su dominio C-terminal, lo cual cambia su conformación (5) y crea un sitio de unión para la Smad cooperadora (Co-Smad) que en mamíferos es siempre Smad4. Smad4 puede asociarse en el citoplasma y entrar al núcleo como complejo con las R-Smads o puede asociarse dentro del núcleo tras la translocación de las R-Smads activadas (6). Una vez allí, el complejo interacciona con el ADN de los genes diana, con los factores generales de transcripción (FGT) y con una gran diversidad de coactivadores y correpresores específicos en cada caso, y como resultado se obtiene la modulación de la expresión génica en respuesta al entorno celular. Este proceso está regulado negativamente por las Smads inhibidoras (I-Smad) (7). Las R-Smad se desfosforilan y pueden ser recicladas o bien marcadas con ubiquitina por la familia Smurf de ubiquitin-ligasas y degradadas por el proteasoma (no mostrado). Modificada de Shi.Y y cols., 2003.⁴⁴⁵

Las Smads van a interactuar con coactivadores como el CBP/p300 que permite al complejo Smad aumentar la actividad transcripcional inherente a otros factores transcripcionales con los que pueden acoplarse sobre ciertas dianas génicas, por tanto, pueden ser consideradas como un complejo coactivador para algunos factores de transcripción.^{445,454} A las secuencias específicas localizadas en el ADN que son reconocidas por las Smads se le denominan SBE (Smad-binding elements) y su secuencia es 5'-GTCT-3' o la complementaria 5'-AGAC-3'. Los promotores que responden a TGF- β

contienen uno o más SBEs, que en muchos casos puede contener una base extra, como 5'-CAGAC-3'. La afinidad de las Smads por un solo sitio SBE es muy pequeña, y va aumentando exponencialmente cuando los sitios SBE se encuentran en tándem.⁴⁵⁶ Por eso, los promotores que responden a Smads suelen contener concatémeros de sitios SBEs, y aquéllos que poseen más de cuatro, requieren la cooperación de otros factores para una unión a ADN efectiva.⁴⁵⁷

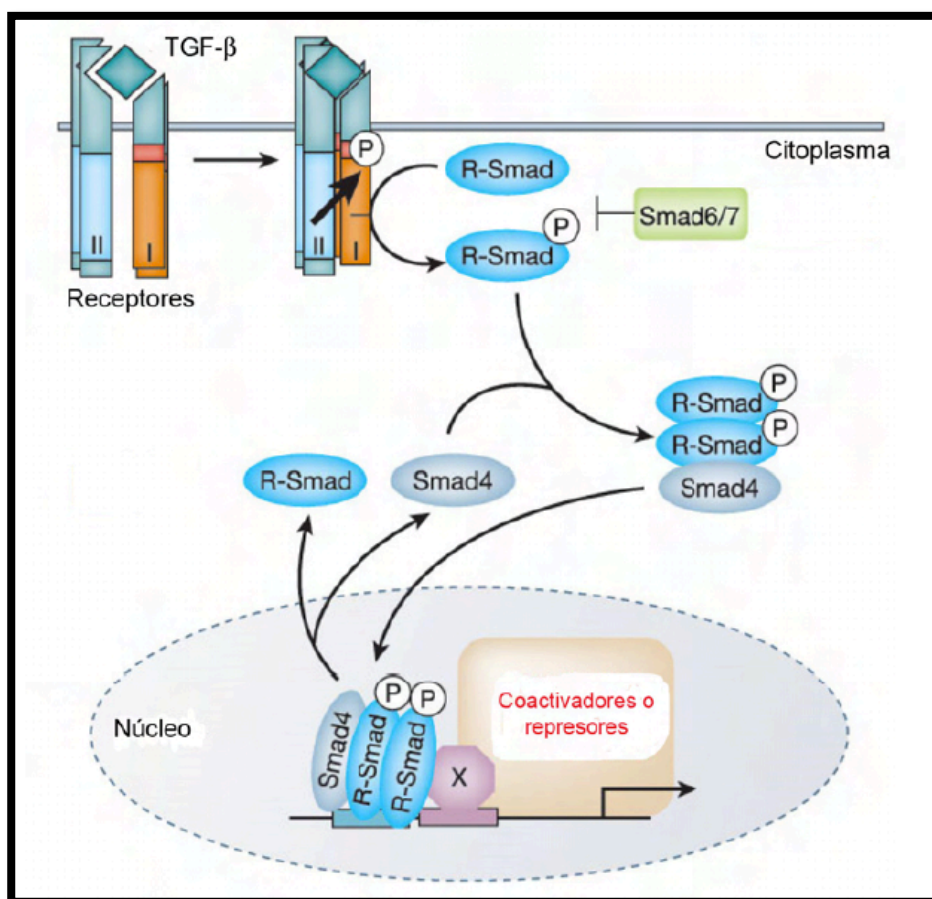


Figura 34. Representación esquemática de la vía de transducción de señal canónica por SMAD inducida por el TGF- β . El TGF- β al unirse al TGF- β RII forma un complejo activo con el receptor I. Este complejo tetramérico fosforila a las SMAD 2 y 3 (R - SMADs), las cuales se asocian con la SMAD 4. El complejo de las SMAD 2 - 3 - 4 activo es traslocado al núcleo donde funciona como un coactivador transcripcional de genes de respuesta al TGF- β . Las SMAD 6 y 7 pueden interactuar con TGF- β RI y RII e impedir que se fosforilen SMAD2 y 3. Modificado de Derynck R. y cols., 2003.⁴⁵⁷

Las Smads se consideran las proteínas transductoras de la señal del TGF- β específicamente, aunque también pueden establecer reacciones cruzadas con rutas de señalización mediadas por otros ligandos. A pesar de ello, no todas las señales que el TGF- β ejerce en la célula están mediadas por las Smads, existiendo lo que se denominan respuestas "no-Smad" o "no canónicas" del TGF- β . Dentro de estas respuestas se incluyen las mediadas por la ruta de MAPKs (Mitogen activated protein kinases), GTPasas similares

a Rho, y la ruta de PI3K/AKT.^{442,455,458} Las señales nucleares que son transmitidas por estas vías de señalización pueden regular la transcripción de un modo independiente de las Smads o bien actuando de forma sinérgica con ellas.

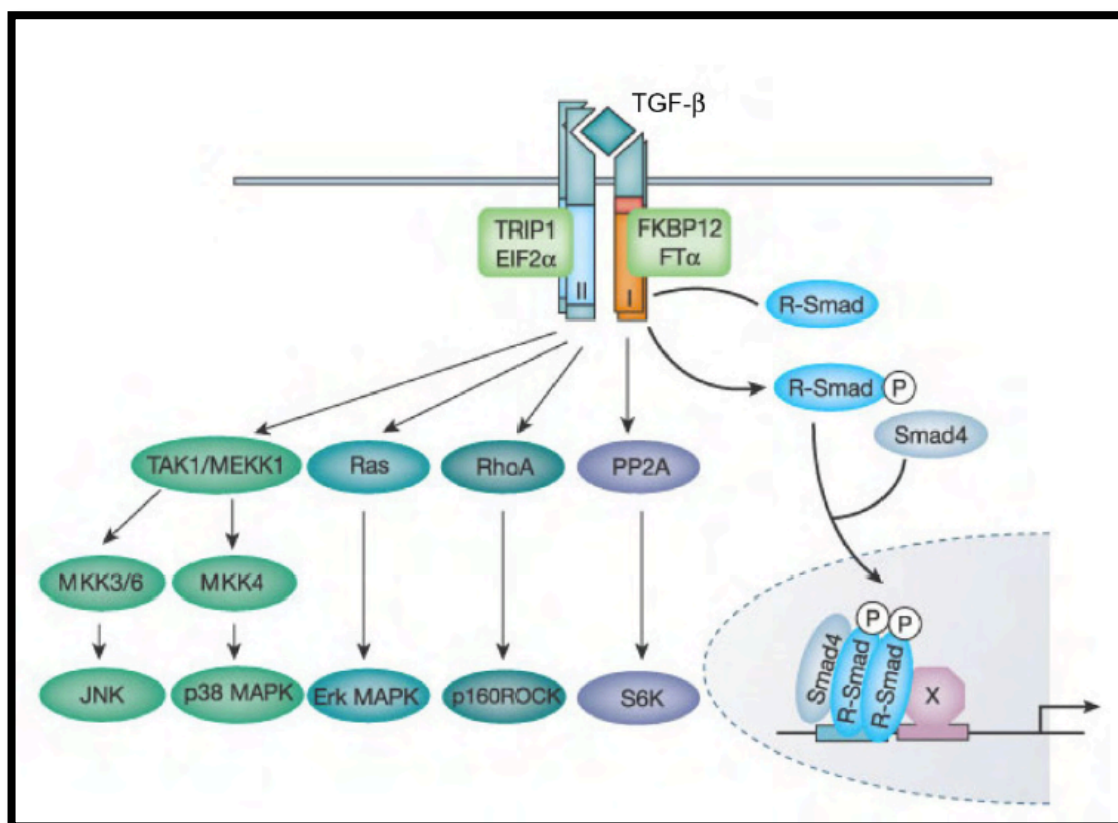


Figura 35. Representación esquemática de las vías de señalización no canónicas del TGF-β. Además de las proteínas que interaccionan con los receptores y SMAD, otras proteínas como TRIP1 y FKBP12 pueden asociarse con los receptores tipo I y II y regular la señalización del TGF-β. Además, el complejo receptor activado actúa activando vías de señalización no - SMAD como MAPK, RhoA, TAK y PP2A. Modificado de Derynck R. y cols., 2003.⁴⁵⁵

1.4.4. Funciones e implicaciones biológicas del TGF-α y TGF-β

Entre las diferentes acciones biológicas del TGF-α destacan⁴²⁷ por aumentar la proliferación y la migración de células epiteliales, liberar iones calcio del hueso, inhibir la actividad de los osteoblastos, tienen efecto angiogénico e intervienen en el desarrollo tumoral tanto de una forma autocrina como paracrina.

El TGF-β por su parte, es un potente estimulador de la formación ósea, potenciando la diferenciación osteoblástica y la síntesis de la matriz osteoide e inhibiendo la síntesis de proteasas (entre las que destacan la metaloproteasa de la matriz (MMP), enzima que degrada la misma). Además, inhibe la reabsorción al reducir la formación y diferenciación

de los osteoclastos, así como la actividad de los osteoclastos maduros y actúa estimulando su apoptosis.⁴⁶⁰

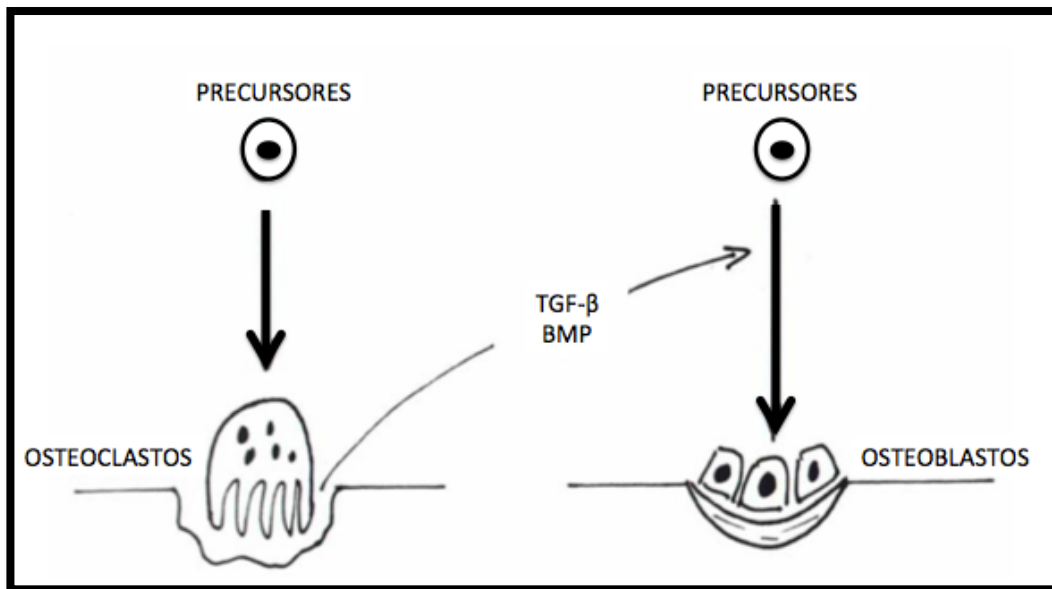


Figura 36. Imagen representativa del acoplamiento entre osteoclastos y osteoblastos a través del TGF- β y las BMP (proteínas morfogenéticas del hueso) liberadas por la reabsorción ósea.

Pero además de estas funciones, se ha descubierto que inhibe la proliferación epitelial y media en el efecto anabolizante de los andrógenos.

Los miembros de la superfamilia del TGF- β son reguladores multifuncionales de la proliferación y diferenciación de una amplia variedad de tipos celulares.

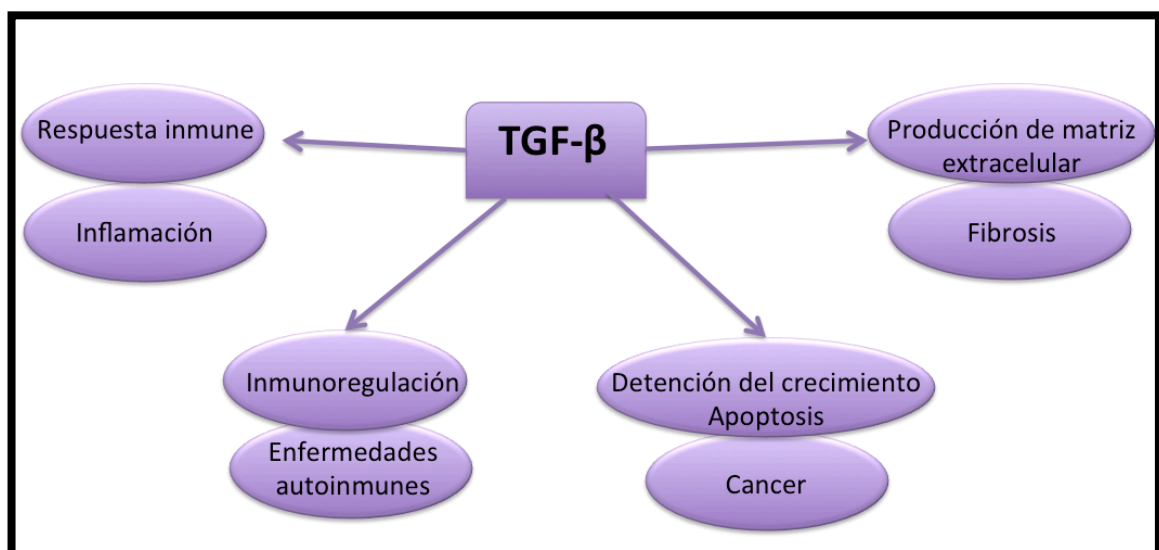


Figura 37: TGF- β actúa como un regulador multifuncional. El TGF- β regula la proliferación, la diferenciación y la activación de células inmunes. La alteración de la señalización del TGF- β se ha relacionado con varias enfermedades humanas, como cáncer, fibrosis, inflamación y enfermedades autoinmunes. Actúa inhibiendo el crecimiento celular y promueve la apoptosis, estimula la producción de matriz extracelular, regula la proliferación y la diferenciación de células endoteliales.

El TGF- β 1 puede actuar como un mitógeno indirecto sobre células mesenquimales o como estimulador de la síntesis de proteínas de matriz extracelular. Actúa mejorando la deposición de matriz extracelular aumentando la síntesis e inhibiendo la degradación.⁴³⁷

El TGF- β 1 puede ser considerado como el prototipo de una citoquina multifuncional, debido a los efectos que tiene sobre los diferentes blancos celulares. Es el inhibidor más potente de la proliferación de células de origen mieloide, mesenquimal, epitelial, linfoide, endotelial y de varios tipos de células malignas. Sin embargo, puede estimular la proliferación de fibroblastos normales, de células no epiteliales y ciertos tipos de células mesenquimales.⁴³⁷ Es un fuerte estimulador de la síntesis y depósito de proteínas de matriz extracelular (MEC) por parte de fibroblastos, osteoblastos y células endoteliales, además de aumentar la expresión de integrinas y receptores que median las interacciones celulares con proteínas de MEC.⁴³⁵

Streuli y cols. demostraron que la expresión del gen de TGF- β 1 es afectada por la presencia o ausencia de proteínas de MEC, lo que indica una posible regulación negativa *in vivo*.⁴⁶¹

El TGF- β 1 además induce otros eventos intracelulares como son la regulación de factores de crecimiento que intervienen en la diferenciación celular. Actúa induciendo cambios de expresión de los genes *jun-B*, *c-fos* y *c-myc*; induce recambio de IP3; evita la fosforilación de pRb dependiente del contacto célula-célula, e induce la activación de proteínas G. En función de la concentración del TGF- β 1, en el contexto de la respuesta inmune, induce o inhibe la producción de citocinas por monocitos, pero inhibe la respuesta protectora de estas mismas células; promueve la quimiotaxis de fibroblastos, monocitos y neutrófilos; *in vivo*, aumenta las funciones efectora y de memoria de los linfocitos T CD4+ antígeno-específicos; estimula la secreción de IgA (Inmunoglobulina A); inhibe la proliferación de linfocitos, células endoteliales, hepatocitos, queratinocitos y ciertas líneas celulares tumorales; inhibe la secreción de IgG e IgM; suprime la hematopoiésis dependiente de IL-3, la megacariopoiésis y la esteriodogénesis en las células adrenocorticales, e inhibe la diferenciación de adipocitos y miocitos.⁴⁶²⁻⁴⁶⁴

Se ha comprobado que el TGF- β no sólo activa al receptor tipo 1 del TGF- β sino que también activa a la c-Jun N-terminal cinasa (JNK), la cual convierte al mediador Smad en dos isoformas fosforiladas distintas: pSmad3C y pSmad3L. Mientras la vía del receptor tipo 1/pSmad3C produce la supresión del crecimiento epitelial, la vía JNK/pSmad3L promueve el depósito de matriz extracelular. Así se ha comprobado que los sujetos con

mayor estadio de fibrosis, mayor grado de necroinflamación así como carcinoma hepatocelular presentaban una activación de pSmad3L y menor actividad de pSmad3C.⁴³³

También se ha demostrado en estudios clínicos que puede inducir inmunosupresión en el trasplante de órganos e injertos de piel, en el contexto de la activación de subpoblaciones de linfocitos T.⁴³³

En definitiva, el TGF- β 1 tiene un espectro muy amplio de funciones, las cuales dependen del estado de activación celular, de su concentración, del balance de expresión de otras citocinas y de las condiciones fisiológicas de las células sobre las que actúa.⁴²⁷

Sporn MB, comentó que: "La función de TGF- β 1 no es tener una acción intrínseca, sino servir como un mecanismo para el acoplamiento de la célula a su entorno, de tal manera que la célula tiene la plasticidad para responder apropiadamente a los cambios en el medio ambiente o cambiar en su estado de diferenciación." Esto quiere decir que la multifuncionalidad del TGF- β 1 está acompañada por un aumento de su expresión por la activación de sus receptores, por la vía de transducción de señal que induce y por la regulación del ciclo celular; todo lo cual sirve para aumentar las respuestas o inhibir las actividades de las diferentes poblaciones celulares.⁴⁶⁶

El conjunto de moléculas de la familia del TGF- β van a actuar de manera paracrina o autocrina y su principal función es la quimiotaxis y diferenciación de las MSCs, y para la producción de colágeno por parte de los osteoblastos. Favorece también la angiogénesis. Inhiben la formación de osteoclastos y la reabsorción ósea.⁴²⁸ A pesar de no estar del todo clarificado en la literatura se ha descrito un efecto mitogénico en las células mesenquimales e inhibitorio de la proliferación en células epiteliales y dependiente de la presencia de otros factores de crecimiento.

El TGF- β regula la acción de Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF).⁴⁶⁷ Y también parece ser que regula la acción de Factor de crecimiento epidérmico (EGF).

El TGF- β está presente en el desarrollo de los procesos inflamatorios, lo cual se considera beneficioso debido a sus propiedades inmunosupresoras sobre células inflamatorias y por implicarse en la generación de linfocitos T reguladores (Treg), además de ser una de las principales moléculas secretadas por ellos.⁴⁶⁸ Actúa inhibiendo el procesamiento y presentación de los antígenos y suprimiendo la activación de linfocitos T, principalmente de los linfocitos T autoreactivos, para restablecer la homeostasis del sistema inmunitario y prevenir la autoinmunidad.⁴⁶⁹

Existen varios estudios que han puesto de manifiesto que su presencia puede ser perjudicial, ya que este factor posee además propiedades proinflamatorias.⁴⁷⁰ Al margen de sus propiedades profibrinogénicas, se ha descrito una potente actividad quimiotáctica del TGF- β para mastocitos,⁴⁷⁰ linfocitos y monocitos.⁴⁷¹ Además se ha demostrado también, que la presencia del TGF- β , conjuntamente con otras citoquinas como son IL-6, IL-23 y/o IL-1 β se implica en la transformación de linfocitos nativos a linfocitos Th17, un tipo celular altamente proinflamatorio tanto en ratones,^{472,473} como en humanos.⁴⁷⁴ La combinación de TGF- β y IL-4, parece también tener un papel fundamental en la activación de la secreción por linfocitos de IL-9,⁴⁷⁵ una citoquina involucrada en el desarrollo de la inflamación y la mediación de la destrucción tisular y relacionada con la fisiopatología de enfermedades alérgicas.^{476,477}

El TGF- β también actúa sobre células epiteliales. Se ha descrito que la exposición a TGF- β cambia las respuestas de quimioquinas por las células epiteliales de las vías respiratorias humanas aumentando la secreción de GM-CSF y de RANTES por éstas, favoreciendo por tanto la eosinofilia y el reclutamiento de linfocitos y monocitos, característicos de la inflamación alérgica y crónica.⁴⁷⁸

También ha sido relacionado el TGF- β con el daño en el tejido bronquial en la bronquitis obliterante y en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, mediando la disminución en la secreción de la molécula inhibidora de proteasas SLPI (secretory leucocyte proteinase inhibitor) por células epiteliales bronquiales.^{479,480} La disminución en la expresión de esta molécula se ha relacionado con incremento en el daño causado por dichas proteasas.

Varios estudios han demostrado que el TGF- β provoca cambios en la expresión de receptores tipo Toll (Toll like receptors, TLR) en modelos murinos.^{481,482} Además son esenciales en la activación de la inmunidad innata estos receptores y se ha demostrado que los TLRs contribuyen a los procesos inflamatorios, mediante el reconocimiento de ligandos exógenos de microorganismos, y a través del reconocimiento de ligandos endógenos, llamados alarmitas o patrones moleculares asociados a daño (danger-associated molecular patterns, DAMPs), liberados de tejidos dañados o necróticos.⁴⁸³ Niveles aumentados de estos DAMPs se han asociados con varias enfermedades inflamatorias, (sepsis, artritis, aterosclerosis, lupus, enfermedades inflamatorias intestinales y cáncer)^{484,485} el TGF- β parece inducir el proceso de transición epitelio - mesenquimal (EMT) junto con otros muchos estímulos.⁴⁸⁶⁻⁴⁸⁸ Existen indicios que sugieren que a través de este proceso, las células epiteliales pueden cambiar su fenotipo y adquirir propiedades mesenquimales. Las

células epiteliales perderían la cohesión intercelular y translocarían desde el compartimiento epitelial al intersticio donde adquiriendo un fenotipo mesenquimal completo, podrían participar en la síntesis de la matriz fibrosa (Fig. 38)^{489,490}

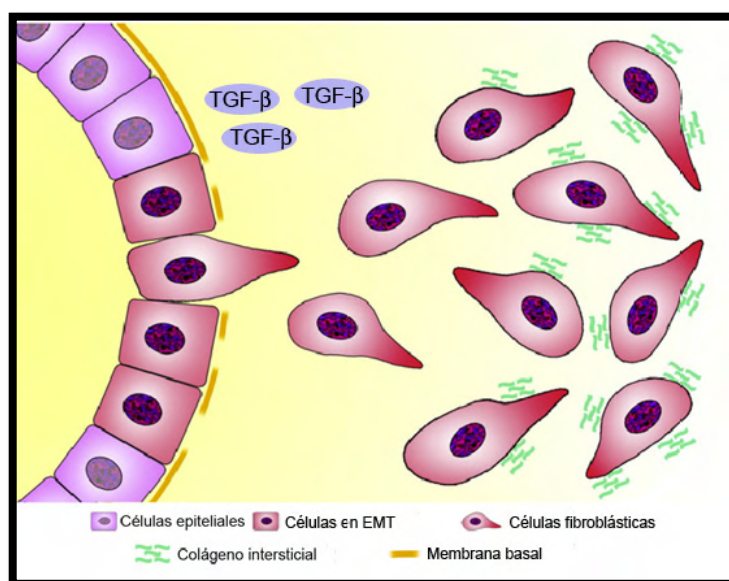


Figura 38. Transición epitelio mesenquimal (EMT). En el lado izquierdo, en reposo las células epiteliales están fuertemente cohesionadas y separadas del intersticio por la membrana basal. Determinados estímulos, como el TGF- β , producen que algunas células epiteliales se preparen para la EMT, lo que conlleva la degradación de la membrana basal, la pérdida de la cohesión célula - célula, aumento de la motilidad, cambio de la forma celular y, por último, la migración hacia el intersticio (centro). Aquí, una vez alcanzado un fenotipo completamente mesenquimal, las células derivadas de la EMT podrían participar en la producción de la matriz fibrosa. Modificada de Guarino M. y cols.⁴⁹¹

Los marcadores de epitelio en fase de transición epitelio-mesenquimal incluyen la menor expresión de e-cadherina, responsable de la pérdida de adhesión célula-célula y el posterior desprendimiento del epitelio,⁴⁹² así como la expresión de nuevo de proteínas mesenquimales como la proteína específica de fibroblastos (fibroblast specific protein 1, FSP1), vimentina y la actina del músculo liso alfa (α -smooth muscle actin, α -SMA).⁴⁹³

La transición epitelio-mesenquimal en enfermedades crónicas puede tener doble consecuencia: por una parte, mediante la generación de nuevas células mesenquimales, que podrían incrementar el número cada vez mayor de fibroblastos intersticiales /miofibroblastos responsables de la acumulación de matriz, y por otra parte, podría causar la pérdida de las células epiteliales, y contribuir a la destrucción del parénquima. Por eso, el TGF- β en un microambiente inflamatorio, podría actuar como potente inductor de la EMT y pueden tener un papel importante en la patogénesis de las enfermedades inflamatorias.

El TGF- β también parece estar relacionado con la regulación de las proteínas de unión estrecha (Tight Junctions, TJ). Estas proteínas son esenciales para la función de barrera epitelial y la adhesión epitelial, constituyendo una barrera física anatómica al movimiento de agua, moléculas grandes, solutos, y células.⁴⁹⁴ Se ha demostrado que una expresión alterada de las TJ está asociada con una pérdida de la función de barrera. Se ha sugerido que la exposición a TGF- β 1 afecta la barrera de TJ y modifica su patrón de distribución.⁴⁹⁵⁻⁴⁹⁷

In Vitro la apoptosis de los osteoclastos es promovida por el TGF- β .⁴⁹⁸ Prácticamente todas las células sintetizan TGF- β 1 y todas las células expresan receptores para los TGF, este hecho indica que TGF- β 1 afecta de alguna forma a todos los procesos fisiológicos.⁴⁹⁹

Entre los estudios *in vitro* más significativos destacan los de Matsuda y cols., en 1992,⁵⁰⁰ los cuales demostraron que el TGF- β provocaba inhibición de la respuesta mitogénica de las células del ligamento periodontal, inhibiendo la proliferación de fibroblastos del ligamento periodontal, no teniendo efectos mitogénicos para estas células. Realizaron un estudio y demostraron que el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) tiene un efecto mitogénico en los fibroblastos del ligamento periodontal, mostrando que los fibroblastos tenían una extraordinaria respuesta quimiotáctica hacia el PDGF. Posteriormente en 1993, Oates y cols.,⁵⁰¹ compararon la actividad mitótica del TGF- β con la interleukina-1 y el PDGF en fibroblastos del ligamento periodontal, llegando a la conclusión de que el TGF- β tenía una menor acción mitótica que el PDGF.

Fue en 1994, cuando Dennison y cols.,⁵⁰² demostraron que tanto el TGF- β como el PDGF provocaban un mayor incremento en la proliferación de las células del ligamento periodontal que en los fibroblastos gingivales.

En 1996, Nishimura y Terranova⁵⁰³ evaluaron la capacidad del TGF- β para estimular la respuesta migratoria de células del ligamento periodontal y de los fibroblastos gingivales. Determinaron que el incremento en la respuesta era de carácter dosis dependiente.

En 1999, Jin Gao y cols.,⁴²⁷ demostraron que las células del ligamento periodontal expresaban múltiples receptores para el TGF- β , presentado este factor un papel importante en el desarrollo y en la posterior maduración del periodonto. Estos autores además demostraron que existía un mayor número de receptores para el TGF- β 2 más que para el TGF- β 3. En el mismo año, Chien y cols.,⁵⁰⁴ observaron la importancia que el TGF- β y sus

isoformas 1, 2 y 3 tenían para inducir la diferenciación de las células del ligamento periodontal y la síntesis de proteínas no colágenas de la matriz extracelular. En este año, también, Joo y cols.,⁵⁰⁵ investigaron el efecto del TGF- β sobre osteoblastos cultivados sobre diferentes superficies de hidroxiapatita. Los autores llegaron a la conclusión de que la presencia de TGF- β favorecía la proliferación de osteoblastos de una manera dosis-dependiente en todas las superficies en que fueron cultivados, de forma similar a lo que determinaron Nishimura y Terranova en su estudio en 1996.⁵⁰³

En el 2001, Adamo y Mailhot,⁵⁰⁶ estudiaron el efecto del TGF- β y de la PGE2 sobre la conexina-43, que funciona como unión tipo gap en células óseas. Estos autores llegaron a la conclusión de que esta proteína no se veía alterada tras la aplicación exógena de TGF- β y PGE2.

Entre los estudios *in vivo* más significativos destacan el de Bosch en 1996,⁵⁰⁷ quien sugirió que el uso de TGF- β en defectos de calota craneal de rata no promovía la regeneración ósea. Posteriormente en 1998, Pack y cols.,⁵⁰⁸ realizaron un estudio sobre el papel que juega el TGF- β 1 con técnicas de regeneración tisular guiada (RTG) o sin ellas, sobre 48 defectos de furca tipo II, en 24 ovejas. Los autores llegaron a la conclusión de que el TGF- β 1 favorecía la regeneración ósea en este tipo de defectos y que este efecto estimulador aumentaba todavía más en presencia de membranas Gore Tex. Fue en 1999, cuando Steinsvoll y cols.,⁵⁰⁹ en un estudio sobre la expresión del TGF β 1 en tejidos periodontales que presentaban enfermedad periodontal crónica, llegaron a la conclusión de que esta citoquina estimulaba los procesos de cicatrización en los pacientes que presentaban esta enfermedad.

Los estudios sobre esta citoquina fueron aumentando y en el 2000, Ruskin y cols.,⁵¹⁰ estudiaron la capacidad que tenía el TGF- β 1 junto con membranas de barrera (PTFEe) en la regeneración ósea en defectos realizados sobre la cresta alveolar canina. Los autores concluyeron que el uso de TGF- β 1 combinado con el uso de estas membranas, aumentaba en gran medida la regeneración del hueso. En este mismo año, Hong y cols.⁵¹¹ usando TGF- β aislado en defectos en calota craneal de conejas no consiguieron un incremento en la regeneración ósea, sin embargo cuando lo vehiculizaba en cápsulas de gelatina si observaron un incremento significativo de hueso regenerado. Otros autores también han sugerido que la efectividad del TGF- β en procedimientos de regeneración ósea depende en gran medida del sistema en que se vehiculiza.⁵¹²

1.4.5. Interacción del TGF- β en la reabsorción radicular

Como hemos descrito anteriormente⁵⁰⁴ el TGF- β y sus isoformas 1, 2 y 3 tienen un papel fundamental en la inducción de la diferenciación de las células del ligamento periodontal y la síntesis de proteínas no colágenas de la matriz extracelular. Steinsvoll y cols.,⁵⁰⁹ en un estudio sobre la expresión del TGF- β 1 en tejidos periodontales que presentaban enfermedad periodontal crónica, llegaron a la conclusión de que esta citoquina estimulaba los procesos de cicatrización en los pacientes que presentaban esta enfermedad.

El tejido conectivo gingival tiene una capacidad de reparación más lenta que la del ligamento periodontal o que el epitelio gingival y la reparación se realizará a partir de fibroblastos gingivales.

Durante las primeras etapas de la formación de hueso, la acción del TGF- β es reclutar y estimular a las células osteoprogenitoras a proliferar, proporcionando un conjunto de principios de los osteoblastos. En contraste, durante las fases posteriores de la diferenciación de osteoblastos, TGF- β bloquea la diferenciación y la mineralización. (Figura 39)⁵¹³⁻⁵¹⁵

Estos efectos parecen ser altamente dependiente de las células óseas, la dosis aplicada y el medio ambiente local, que puede ser el resultado de la inhibición de la síntesis de ADN ante altas concentraciones de TGF- β .⁵¹³⁻⁵¹⁵

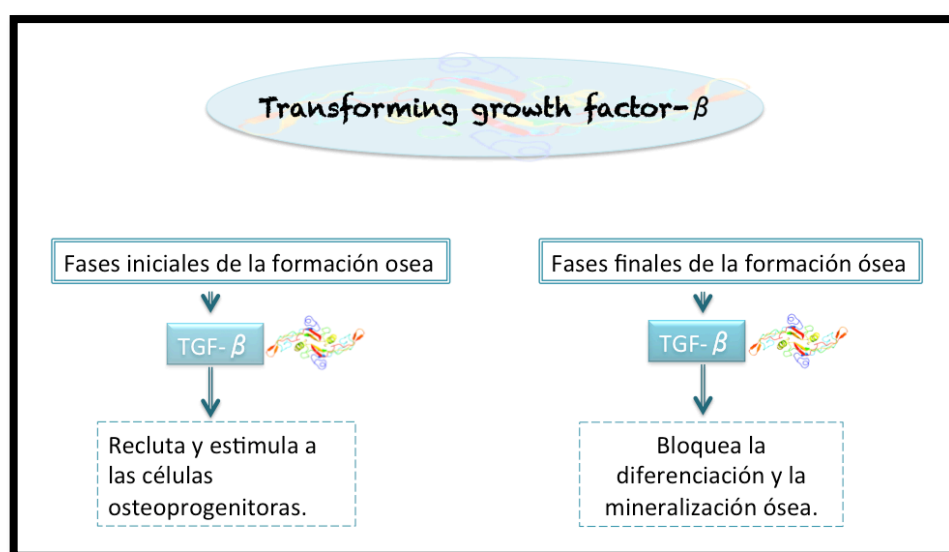


Figura 39. Acción del TGF- β en las fases iniciales y finales de la formación ósea.

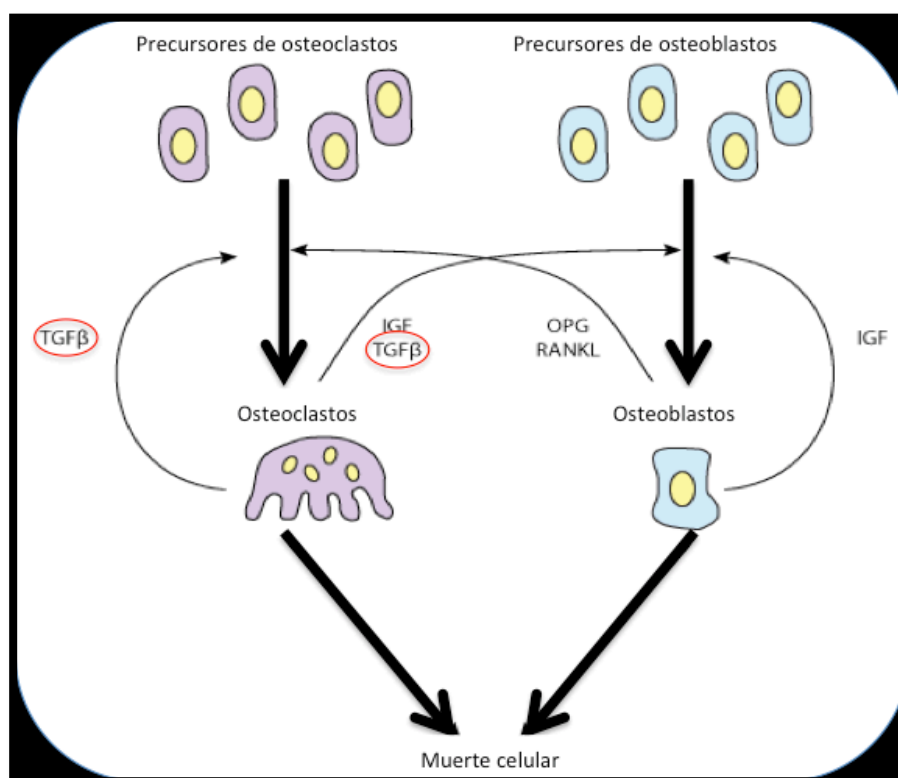


Figura 40. Representación esquemática de las interacciones entre los osteoclastos y los osteoblastos. Las flechas gruesas representan los procesos de formación y eliminación de los osteoclastos y los osteoblastos. Las flechas finas representan los efectos de los reguladores autocrinos y paracrinos de la remodelación ósea en las tasas de los osteoclastos y la formación de los osteoblastos. Modificado de Komarova SV. y cols., 2003.⁵¹⁶

El TGF- β , liberado y activado por los osteoclastos, estimula directamente la formación de los osteoclastos y los osteoblastos. La IGF, secretada por los osteoblastos y los osteoclastos, activa la formación de osteoblastos. RANKL, expresada y puesta en libertad por los osteoblastos, activa la osteoclastogénesis. OPG, osteoprotegerina, determinado por los osteoblastos, inhibe la acción de RANKL (Figura 40).⁵¹⁶

A pesar de estas funciones definidas potencialmente implicadas en los procesos de reabsorción del tejido mineralizado, entre ellos del tejido radicular, hasta el momento no existe ningún estudio, de acuerdo a nuestro conocimiento, que haya investigado la asociación directa entre el TGF- β y la susceptibilidad a la reabsorción radicular apical externa.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

2- HIPÓTESIS DE TRABAJO

La RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia es una complicación muy común. Incluso cuando se utilizan protocolos clínicos similares al realizar los tratamientos de ortodoncia en pacientes con una misma maloclusión, la variabilidad en la severidad de la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia es una realidad imprevisible.

Estudios anteriores han determinado que la reabsorción radicular puede evaluarse adecuadamente con menos radiación utilizando una radiografía panorámica (Brin et al.,¹⁹¹ Pandis et al.,⁷³). Los errores de precisión absoluta, sin duda podrán registrarse mejor con un sistema de Imagen 3D, una vez que este esté disponible y su uso sea éticamente justificable.

Recientemente se ha determinado la influencia genética en la susceptibilidad a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.^{16,75,180,181,196,241-248}

En los últimos años han sido estudiados por diferentes autores, diferentes biomarcadores genéticos que dan lugar a un aumento / reducción de la susceptibilidad a padecer RRAE postortodóncica.

En este contexto, en los últimos años se han publicado diversos estudios que describen un riesgo aumentado a padecer RRAE post-ortodóncica en ciertos pacientes condicionados genéticamente.^{73,181,196,241,244,248,293} Se han descrito variaciones genéticas a nivel del cromosoma 18²⁴⁸ y en el clúster del gen de la IL-1 β (+3953/+3954 C<T) polimorfismo, que se asocian directamente con una predisposición aumentada a padecer RRAE secundaria al tratamiento ortodóncico.^{196,241,243} Gülden y cols.,²⁴⁴ por su parte, asociaron el polimorfismo del gen *IL1A* (-889) con la aparición de RRAE. También se han asociado variaciones en el gen de la *IL1RN* con la aparición de esta complicación del tratamiento de ortodoncia.^{241,246} Recientemente se ha asociado el polimorfismo del gen *P2RX7* (rs1718119) con el aumento de la RRAE.²⁴² Nuestro grupo de investigación llevo a cabo un estudio en el cual se describía que el gen de la *Osteopontina* (rs9138 and rs11730582) también predispone genéticamente a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.³⁹⁵ Por otra parte, se ha descrito que los polimorfismos (rs1982073, rs4522809 y rs1800469) a nivel del gen *TGFB*, aumentan la secreción del *TGFB* y además se ha descrito la influencia de estos polimorfismos (rs1982073, rs4522809 y rs1800469) en distintas patologías.⁵¹⁷⁻⁵¹⁹ De acuerdo a nuestro conocimiento e investigaciones, hasta el momento, no existe ningún

estudio que haya investigado la asociación directa entre el TGF- β y la susceptibilidad a la reabsorción radicular apical externa.

En base a estos antecedentes descritos, la hipótesis planteada en el presente estudio es la siguiente:

“Pacientes con variaciones genéticas a nivel de la secuencia codificante del clúster del gen del *TGFB* (rs1982073, rs4522809, rs1800469), podrían tener un riesgo aumentado o disminuido en relación al padecimiento de reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento ortodóncico respecto a pacientes control”

OBJETIVOS

3- OBJETIVOS

En base a la hipótesis de trabajo planteada y para la corroboración de la misma, nos centramos en los objetivos descritos a continuación.

3.1. *Objetivos generales*

- Dar sustento bibliográfico al contexto actual de la reabsorción radicular en relación a su clasificación, epidemiología, estructuras anatómicas implicadas, procesos biológicos asociados y etiopatogenia.
- Describir el efecto de las variaciones genéticas potencialmente implicadas en este proceso patológico, centrándonos fundamentalmente en el gen *TGFB*.

3.2. *Objetivos específicos*

- Relacionar la influencia de las variaciones genéticas a nivel del “cluster” del gen del *TGFB* (rs1982073, rs4522809, rs1800469), con la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.
- Describir la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos genéticos del *TGFB* en una población caucásica de origen español.
- Determinar el perfil genético de la población española en relación al gen del *TGFB*, en su papel determinante sobre la predisposición o protección ante la RRAE post-ortodóncica.

MATERIAL Y MÉTODOS

4- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Búsqueda bibliográfica

En el presente estudio ha sido realizada una búsqueda bibliográfica de la literatura científica en relación a la reabsorción radicular apical externa, su relación con la ortodoncia y la influencia genética debido a variaciones genéticas presentes en el ADN, que incrementan la susceptibilidad de padecer reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento de ortodoncia, centrándonos en el *TGFB*.

4.1.1. Fuentes de información

La revisión bibliográfica se llevó a cabo mediante la búsqueda en la base de datos Medline (Entrez PubMed, www.ncbi.nlm.nih.gov), incluyendo publicaciones sin límite anterior de tiempo y actualizada hasta Enero del 2016. Con el fin de detectar literatura no publicada por los canales convencionales que pudiera ser relevante para nuestra búsqueda, se utilizó la base de datos OpenGrey de la Asociación Europea para la Explotación de “Literatura Gris” o EAGLE (European Association for Grey Literature Exploitation), también actualizada hasta Enero del 2016.

Las bases de datos SCOPUS, Embase, Scielo también se exploraron con el objetivo de encontrar artículos que coincidieran con nuestros criterios de selección, sin límite de tiempo anterior y hasta Enero del 2016. Además, las principales revistas de Ortodoncia indexadas en el JCR (*Journal Citation Reports*) se revisaron a mano para identificar estudios potenciales no incluidos en los criterios de selección designados para esta búsqueda.

4.1.2. Estrategia de búsqueda

Los términos empleados en la búsqueda, usando diversas combinaciones e incluyendo la combinación de términos cruzados además de, tener en cuenta los criterios de inclusión pautados, fueron los términos MesH (Medical Subject Headings): “root resorption” o “external apical root resorption”, combinados a través del conector “AND” con: “orthod*”,

“OR” “Transforming Growth Factor beta”, “OR” “TGFB”, “OR” “etiology”, “OR” “genetic*”.

4.2. Diseño metodológico

Para la puesta a prueba y demostración de la hipótesis planteada, se planteó un estudio observacional analítico de casos y controles, analizando retrospectivamente todas las radiografías y tomando muestras de ADN de los pacientes tratados en el Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla.

El posterior análisis genotípico de las muestras se realizó en el contexto del Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Universidad de Sevilla y en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Este estudio se realizó con el consentimiento informado de cada sujeto por escrito y de acuerdo con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos descrito en la Declaración de Helsinki.⁵²⁰ Todos los datos clínicos fueron tratados bajo anonimato y absoluto secreto profesional. Asimismo el presente trabajo contó con la aprobación del Comité Ético de Experimentación de la Universidad de Sevilla para la investigación en humanos.

4.3. Población de estudio y selección de la muestra

En el estudio participaron 264 pacientes que habían finalizado el tratamiento de ortodoncia con aparatología fija, los cuales fueron invitados a participar de modo consecutivo tras haber sido sometidos a tratamiento de ortodoncia con aparatología fija en el Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla.

4.3.1. Criterios de selección de la muestra

Los criterios de inclusión y exclusión se obtuvieron tras una revisión exhaustiva de la literatura.^{196,241,242,244-246,248,293,395}

Los criterios de inclusión de los pacientes que participaron en el estudio fueron:

- 1) Pacientes que habían finalizado el tratamiento de ortodoncia con aparatología fija multibrackets en el Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla;
- 2) Antes de iniciar el tratamiento de ortodoncia, presentaban una formación radicular completa de los incisivos centrales y laterales superiores;
- 3) Que no habían recibido tratamiento de ortodoncia previos;
- 4) Sin previa historia de traumatismo;
- 5) Sin patología sistémica que pudiera alterar la biología de los tejidos duros;
- 6) Que no presentaran tratamiento de conductos realizados en los dientes de estudio.

Los criterios de exclusión de los pacientes que participaron en el estudio fueron:

- 1) Pacientes que habían sufrido un proceso de fractura o desgaste parafuncional sobre los incisivos superiores durante el tratamiento ortodóncico;
- 2) Pacientes que presentasen patologías periapicales en el diente de estudio o dientes adyacentes;
- 3) Pacientes que presentasen patologías médicas severas: enfermedad cardiovascular, SIDA, diabetes no controlada, desórdenes inmunológicos, trastornos de la coagulación, radioterapia o quimioterapia, y pacientes que consuman medicación que afecte las reacciones inflamatorias o inmunológicas como corticoides o antiinflamatorios no esteroideos durante un largo período de tiempo;
- 4) Falta de ortopantomografía o mala visualización anatómica de los dientes de estudio.

4.4. Muestreo realizado y distribución de la muestra

La muestra recolectada se dividió en dos grupos de estudio, en base a la existencia o no de RRAE mayor de 2mm una vez finalizado el tratamiento ortodóncico.^{196,241,243,521,522} En el primer grupo, grupo control, se incluyeron a los pacientes que no presentaban RRAE o que la presentaban con un valor inferior a 2mm, y en el segundo grupo, grupo experimental, se incluyeron a los pacientes que presentaban una RRAE igual o superior a 2mm.

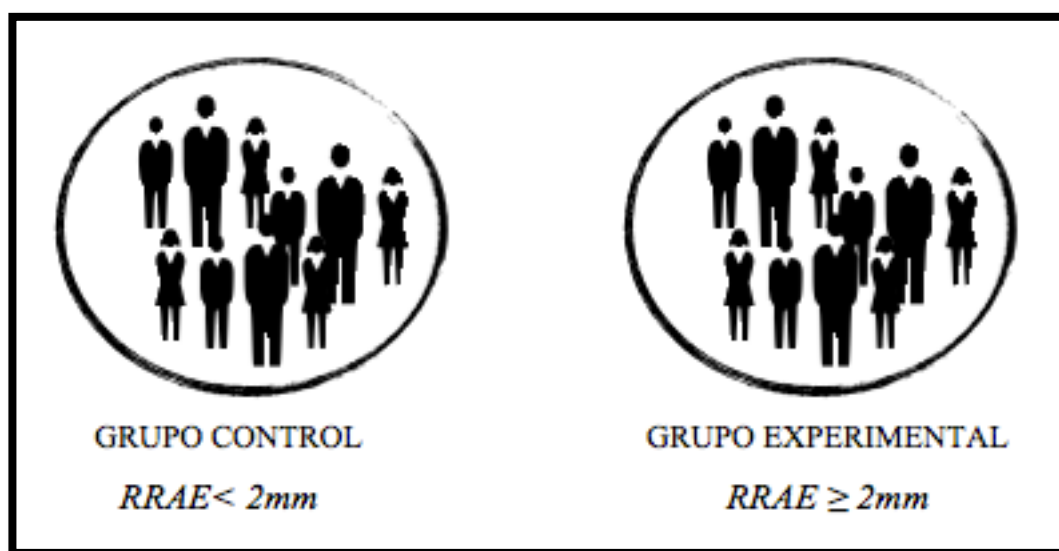


Figura 41. Esquema de la distribución de grupos.

4.5. Variables clínicas analizadas y medidas radiográficas

Se registraron los siguientes parámetros clínicos de cada paciente; la edad de inicio del tratamiento,^{68,79,188,190,199,203,204,219,268-271} el sexo (masculino, femenino),^{16,75,199,200,203,213,233,235,236,271,272,278} la clase de Angle (clase I, II, III),^{75,78,181,191,194,198,199,202,213,267} si el tratamiento se ha llevado a cabo con o sin extracciones,^{201,274,523} así como la duración total del tratamiento.^{67,75,201,203,524}

Distintos autores han empleado estas variables previamente en estudios similares de asociación genética y RRAE.^{16,196,241,243,246,522}

Para la determinación de existencia de RRAE se emplearon las proyecciones radiográficas requeridas de rutina para el diagnóstico ortodóncico, ortopantomografías iniciales y finales de todos los pacientes que participaron en el estudio, con el objetivo de medir las longitudes radiculares pre- y post-tratamiento ortodóncico, tal y como ha sido descrito en estudios validados y publicados anteriormente en la literatura.^{16,196}

Todas las radiografías fueron digitales, y se empleó un software de medidas para realizar la cuantificación (AUTOCAD 2015, Autodesk, California) que permitió emplear filtros de imagen para optimizar la precisión a la hora de localizar los puntos terminales de las raíces. Además estas radiografías fueron calibradas previamente, siendo corregido el

factor de magnificación en cada caso.

Los dientes de estudio fueron el incisivo central o lateral superior que presentase la mayor longitud antes de comenzar el tratamiento ortodóncico o, en su defecto, el de mayor grado de reabsorción tras el tratamiento ortodóncico. Para la valoración del grado de reabsorción observado se empleó una modificación del método de Linge L y Linge BO¹⁹⁰ para medir la longitud de la raíz del diente seleccionado pre- y post-tratamiento y determinar los cambios de la longitud dental y radicular. Asumiendo una constancia en la longitud coronal durante el tratamiento con ortodoncia, la proporción entre la longitud coronal inicial (c_1) y la final (c_2), determinó el factor de alargamiento entre las radiografías pre- y post-tratamiento.

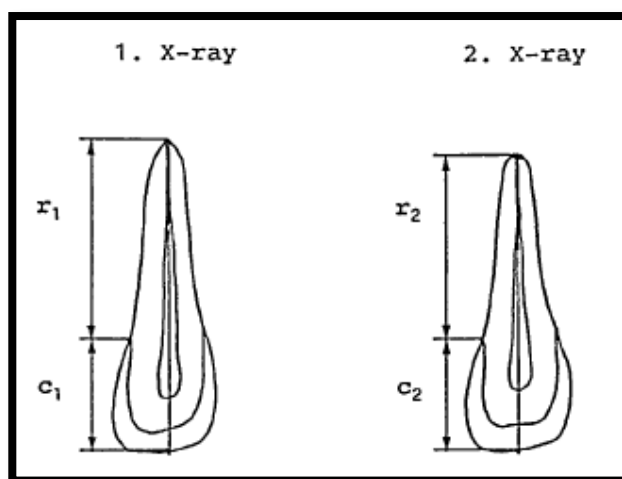


Figura 42. Medidas radiográficas. Tomada de Linge y cols.¹⁹⁰

Si no ocurren cambios en la longitud radicular durante el tratamiento, la proporción entre la longitud radicular inicial (r_1) y la final (r_2) debería ser igual a la proporción c_1/c_2 ; en cambio, si durante el tratamiento se acorta la raíz, la cantidad de RRAE será igual a $r_1 - r_2$ [c_1 / c_2]. Este método, modificado posteriormente por Brezniak y cols. en el 2004,⁵²⁵ ha sido utilizado por otros autores en estudios similares al propuesto.^{226,243} El diente que presente más RRAE será el que se seleccionó como variable dependiente de interés para cada sujeto.

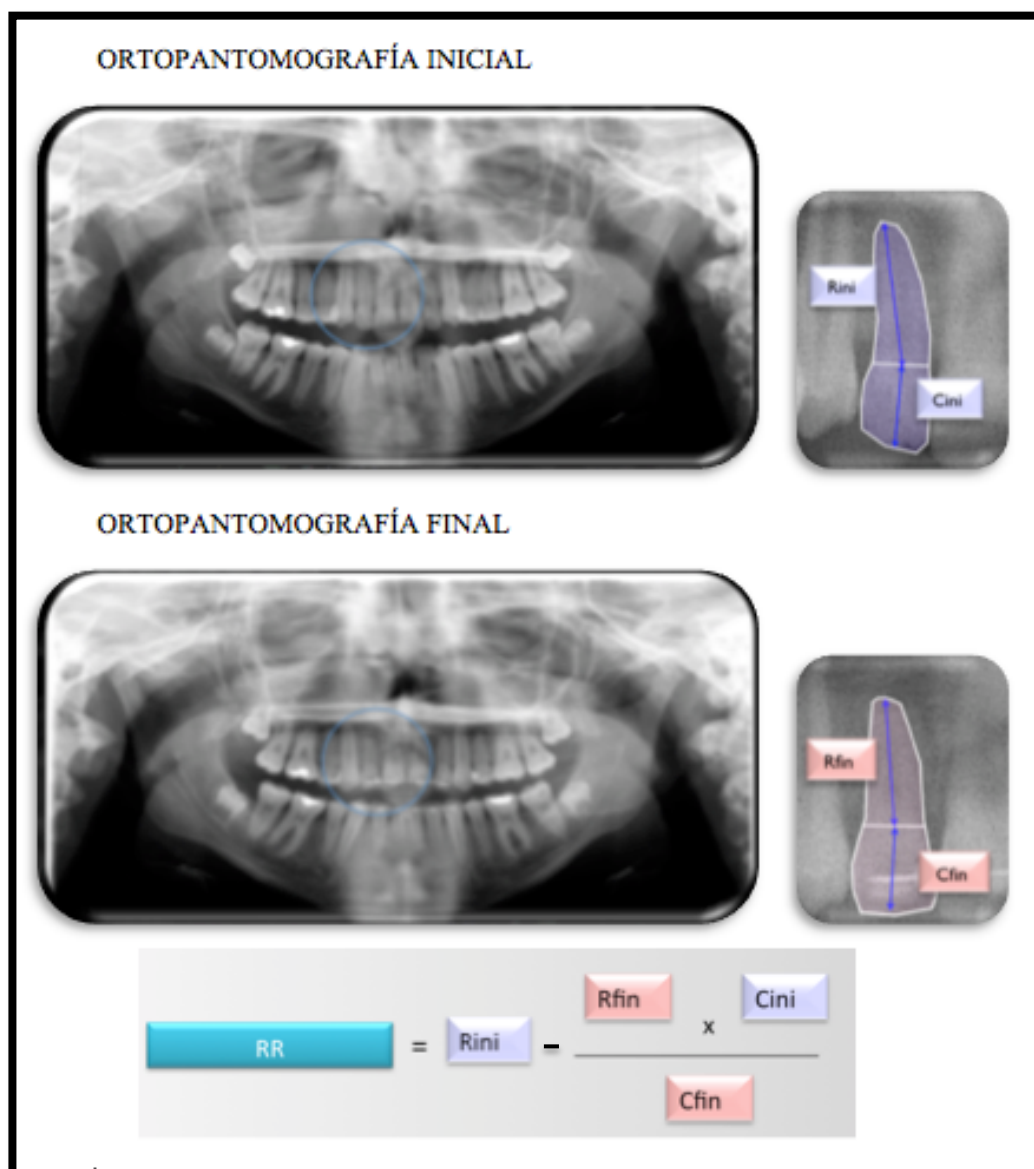


Figura 43. Ortopantomografía inicial y final. Fórmula aplicada.

4.6. Selección de muestras biológicas para genotipado de la muestra

Se recogieron muestras de saliva de cada uno de los pacientes que participaron en el presente estudio. Los pacientes fueron advertidos de no beber previamente (excepto agua), de no fumar, de no masticar chicle y de no comer en los 30 minutos previos a la toma de la muestra de saliva.

Se emplearon tubos de recolección para recoger las muestras de saliva. La mayor parte de los pacientes tardaron entre 2 y 5 minutos para proporcionar una muestra de saliva. Se siguieron los pasos que describimos a continuación. Antes de escupir, el paciente debe relajarse, frotarse las mejillas suavemente durante 30 segundos, para producir saliva.

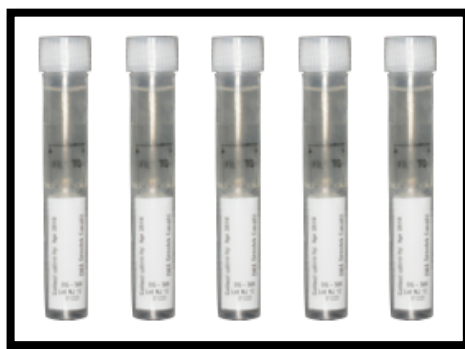


Figura 44. Tubos estériles de recolección individual para cada paciente.

1- Se llenará el recipiente con saliva líquida (sin contar la espuma) hasta alcanzar el límite que aparece en el bote.

2- Se mantendrá el tubo en posición vertical con una mano cerrando herméticamente el mismo. La solución de estabilización que se encuentra en la tapa se liberará en el tubo para mezclarse con la saliva. Este líquido contendrá 2ml de buffer de estabilización.

3- Mantendremos el tubo en posición vertical. Y entonces desenroscaremos el tubo del embudo y se cerrará herméticamente la muestra recogida.

4- Entonces, agitaremos el tubo tapado durante 5 segundos.

Una vez tomada, los tubos se guardaron a temperatura ambiente, entre 15-30°C (59-86°F). Posteriormente, las muestras de saliva fueron procesadas en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, donde se procedió a la extracción del ADN.

De las muestras de saliva, 500 microlitros pasaron por un proceso de purificación a través de concentraciones crecientes de etanol y centrifugado selectivo para la eliminación de impurezas fragmentadas. El ADN extraído fue almacenado a -80 grados centígrados para su posterior secuenciación.

El análisis de secuenciación de cada paciente se llevó a cabo mediante la extracción del ADN y determinación de la secuencia de las variaciones genéticas (rs1982073, rs4522809, rs1800469) incluidas en el cluster del gen del *TGFB* que se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con *primers* específicos para las regiones de

interés a nivel cromosómico. El método para la genotipificación de *SNP* se basó en una secuenciación con el sistema iPLEX MassARRAY. El ensayo consistió en una reacción de PCR específica de locus inicial, seguido por la extensión de una sola base usando terminadores de dideoxinucleótidos modificado de masas de un cebador de oligonucleótido que hibrida inmediatamente por encima del sitio polimórfico de interés. El uso de MALDI-TOF espectrometría de masas, la masa distinta del cebador extendido identifica el alelo *SNP*.⁵²⁶ Posteriormente se realizó un análisis bioinformático para la detección de las distintas distribuciones alélicas encontradas en los distintos pacientes seleccionados que determinarán su genotipo para las regiones especificadas.

4.7. Análisis estadístico

4.7.1. Cálculo del error y precisión del método

Todos los procedimientos que se han descrito fueron realizados por el mismo observador experimentado y calibrado (N.N.N) para prevenir el error interobservacional.

Adicionalmente se determinó el coeficiente de correlación intraexaminador (índice k) para determinar la concordancia y fiabilidad intra-examinador en la clasificación radiológica de RRAE en los sujetos del grupo experimental y del grupo control.

Para determinar el error del método, se realizaron mediciones dobles de 15 ortopantomografías tomadas aleatoriamente. Las mediciones se realizaron en diferentes momentos, con un intervalo de diferencia entre ellas de 3 semanas, y luego fueron comparadas estadísticamente mediante el test t de Student para muestras pareadas y el coeficiente de correlación intraclase, considerando como indicativo de concordancia, entre los valores medios, la ausencia de significancia estadística ($p > 0,05$) y valores superiores a 0.9, respectivamente.

La precisión del método se calculó a partir de la siguiente ecuación: $SE = \sqrt{(\Sigma d^2/2n)}$, donde d es la diferencia entre el doble de las mediciones y n el número de pares de mediciones dobles.⁵²⁷

4.7.2. Cálculo del tamaño muestral

El cálculo del tamaño muestral se realizó atendiendo a la frecuencia de presentación de la variable RRAE en lesiones que se consideran inequívocamente reabsorción radicular

producida por tratamiento ortodóncico, tanto en el grupo de casos (igual o mayor a 2mm) como de controles (menor a 2mm).^{196,241,243}

Con un error alfa del 5% y una potencia estadística del 90%, para encontrar una relación entre la aparición de la lesión y la variación en la secuencia genómica de los individuos afectados, y partiendo de una frecuencia del 2% en el grupo control y una frecuencia del 19% en el grupo de casos, se necesitarán 120 casos para el grupo de estudio y 120 para el grupo control.⁵²⁸

El tamaño de la muestra se calculó basándonos en un modelo genético libre y un modelo de error establecido (Sobel et al)⁵²⁹ con cumplimiento del principio Hardy-Weinberg para casos/controles (Purcell et al).⁵³⁰

4.7.3. Cálculo de las distribuciones, frecuencias y asociación con la RRAE.

Se empleó un análisis estadístico univariante para el cálculo de frecuencias, medias, desviación estándar, rangos y límites en cuanto a las variables clínicas y genotípicas.

Se determinó la normalidad de la muestra seleccionada y en base a los resultados se empleó inicialmente un análisis de regresión logística multivariante y el test de Chi-cuadrado para investigar la asociación de los polimorfismos descritos en el gen del *TGFB*, las distribuciones genotípicas y las frecuencias alélicas en los sujetos de ambos grupos. El riesgo de RRAE asociado con los alelos o genotipos se calculó usando las Odds ratio (OR) para cada marcador, con determinación de los intervalos de confianza del 95%. Adicionalmente se realizó un análisis de regresión logística binaria para analizar la extensión de interferencia de los parámetros clínicos en ambos grupos de pacientes, control y experimental, indicando un umbral de significación estadística con un valor de $p < 0.05$.

El programa que se empleó para la realización de los análisis estadísticos fue el SPSS (versión 17.0; LEAD Technologies, Inc., Chicago, IL, EEUU). Se tomó un valor de $p < 0,05$ como valor umbral para determinar las asociaciones estadísticamente significativas.

RESULTADOS

5- RESULTADOS

La muestra total se compuso de 264 pacientes ortodóncicos, divididos en dos grupos de estudio en base a la existencia o no de RRAE mayor a 2mm. En el primer grupo, grupo control, se incluyeron a los pacientes que no presentaban RRAE o que la presentaban con un valor inferior a 2mm, estaba constituido por 143 pacientes, y en el segundo grupo, grupo experimental, se incluyeron a los pacientes que presentaban una RRAE igual o superior a 2mm, y estaba constituido por 121 pacientes (Figura 45).

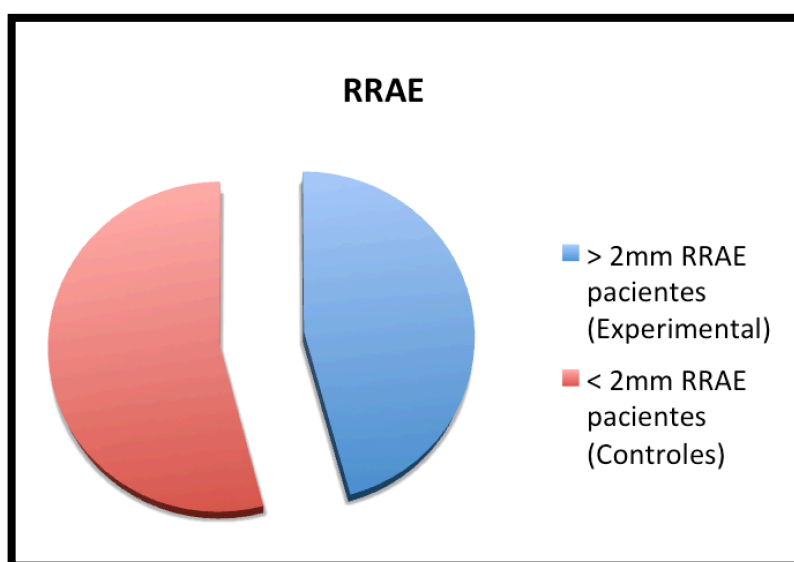


Figura 45. Distribución de la muestra en grupos experimental y control.

Siguiendo metodología descrita por diferentes autores,^{16,196,241,243,246,293} los parámetros clínicos analizados fueron la edad, el sexo, la clase de Angle, el tratamiento con o sin extracciones y el tiempo total de tratamiento. La edad media de tratamiento de toda la muestra fue de 18,93 años, con una desviación estándar de 9 años y 6 meses. La muestra global estuvo compuesta por 158 (59,8%) mujeres y 106 (40,2%) hombres. Del global de todos los pacientes, 140 presentaban clase I, 90 clase II y 34 de los pacientes eran clase III. El tratamiento se llevó a cabo con extracciones en 112 de los 264 pacientes, y en los restantes 152 no se realizaron extracciones. El tiempo medio de tratamiento fue de 34 meses, con una desviación estándar de 12,32 meses (Tabla3) (Figura 46).

Tabla 3. Muestras globales según las características clínicas de los pacientes examinados.

Parámetros clínicos	Frecuencia (%)
RRAE*	
> 2mm RRAE* pacientes (Experimental)	121 (45,83%)
< 2mm RRAE* pacientes (Controles)	143 (54,17%)
Edad media[años]	18,93+-9,66
Sexo [n (%)]	
Femenino	158 (59,8%)
Masculino	106 (40,2%)
Clasificación Angle [n (%)]	
Clase I	140 (53%)
Clase II	90 (34,1%)
Clase III	34 (12,9%)
Tratamiento [n (%)]	
Con extracciones	112 (42,4%)
Sin extracciones	152 (57,6%)
Tiempo de tratamiento (meses)	34+-12,32

RRAE: Reabsorción radicular apical externa.

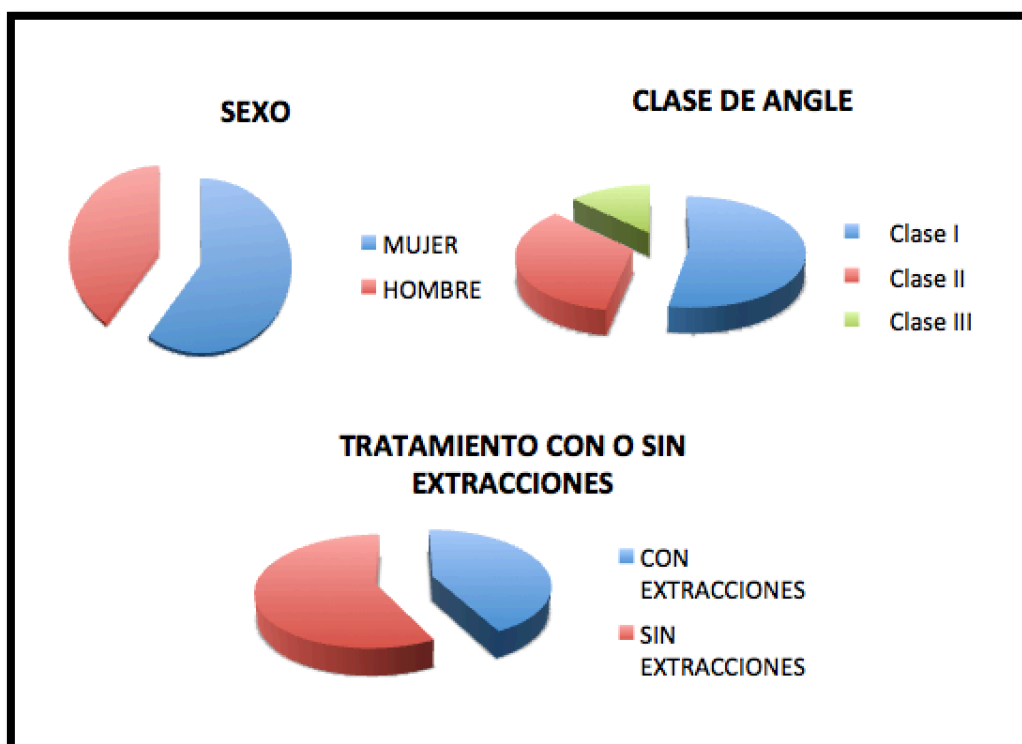


Figura 46. Distribución de la muestra global en función del sexo, clase de angle y tratamiento con o sin extracciones.

En relación al método de medición y cuantificación radiográfica empleado en el presente estudio para la valoración de la presencia radiográfica de RRAE, se muestra un error intraobservacional de 0.25mm en las ortopantomografías. Tras el análisis y cuantificación del error observamos que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las mediciones originales y las repetidas (ICC: 0.92; $p>0.05$), con un índice de concordancia favorable ($k=1.00$) para las ortopantomografías. A través del test T de Student para muestras pareadas, se compararon las mediciones realizadas en diferentes momentos de las 15 ortopantomografías y se obtuvieron datos no significativos.⁵³¹

Cada uno de los parámetros clínicos fueron analizados en función del grupo experimental y el grupo control, tal y como mostramos en la Tabla 4. La edad media de inicio de tratamiento fue de 18,63 años para el grupo experimental, con una desviación estándar de 9 años y 2 meses, y de 19,19 años para el grupo control, con una desviación estándar de 10 años y 1 mes (Figura 47).

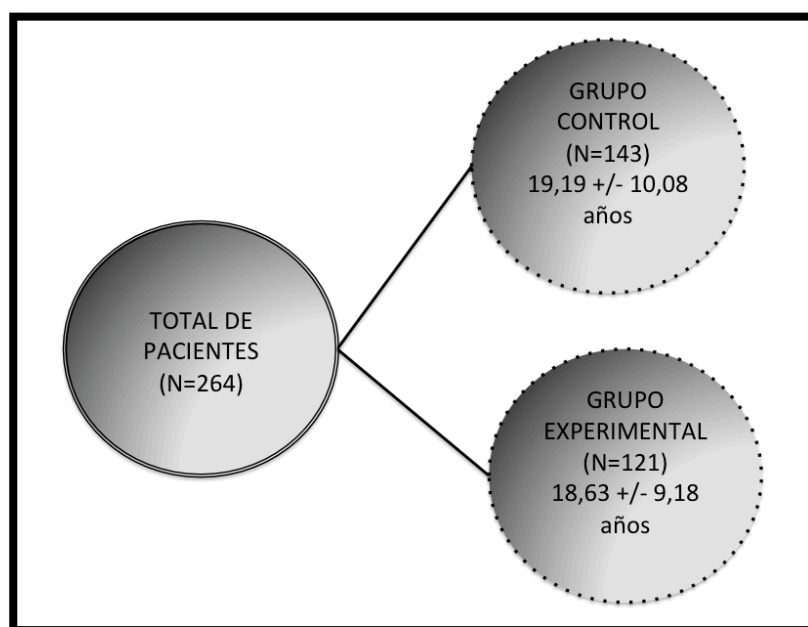


Figura 47. Edad media de los pacientes al inicio del tratamiento.

En cuanto a la distribución por género, el grupo experimental estaba constituido por un 61,2% de mujeres y un 38,8% de hombres, mientras que el grupo control estaba constituido por un 58,7% de mujeres y un 41,3% de hombres, observándose una adecuada homogeneidad en la distribución de ambos grupos, prevaleciendo las mujeres en ambos grupos (Figura 48).

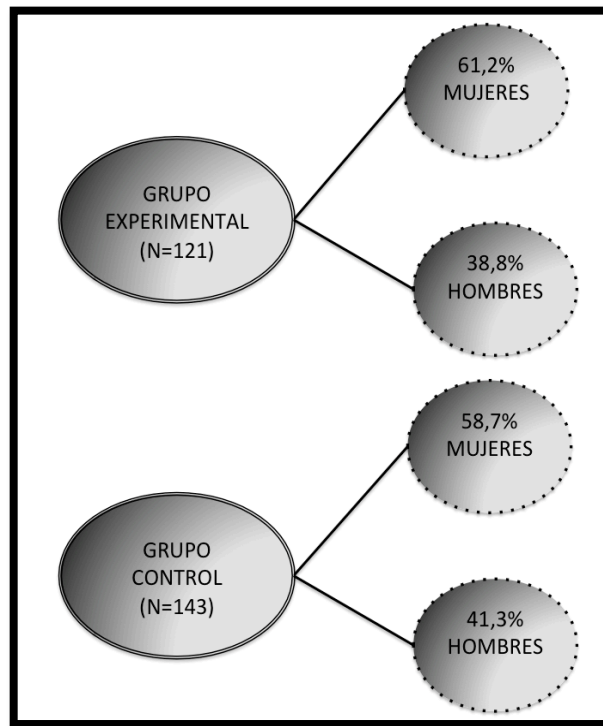


Figura 48. Distribución por género.

Ambos grupos, experimental y control, estaban constituidos mayoritariamente por pacientes de clase I (50,4%, 55,2%), seguidos por clase II (35,5%, 32,9%) y con un menor porcentaje los pacientes de clase III (14%, 11,9%) respectivamente (Figura 49).

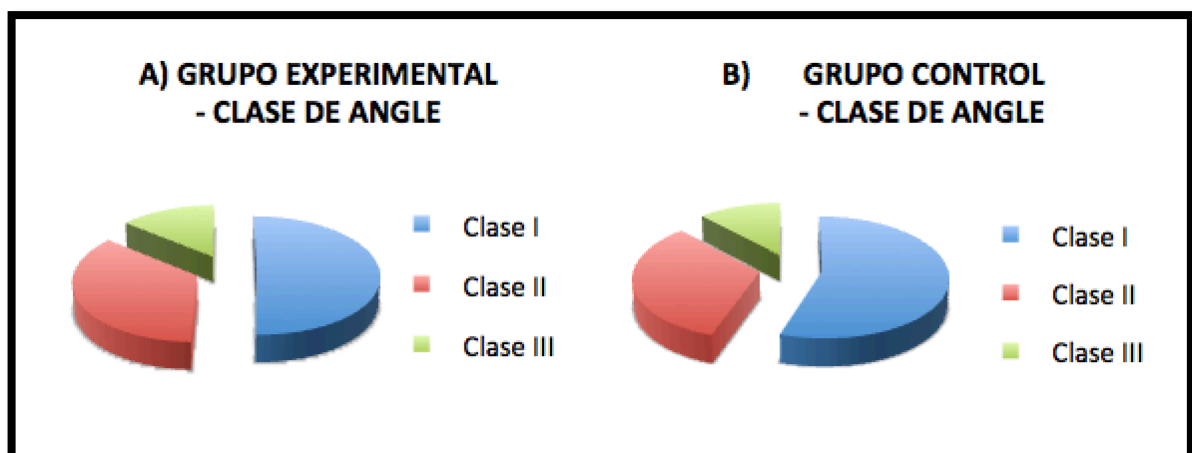


Figura 49. A. Distribución del grupo experimental en función del tipo de maloclusión. B. Distribución del grupo control en función del tipo de maloclusión.

Dentro del grupo experimental, al 49,6% de los pacientes se les había realizado extracciones, mientras que en el grupo control solo un 36,4% de los pacientes habían recibido un tratamiento con extracciones (Figura 50).

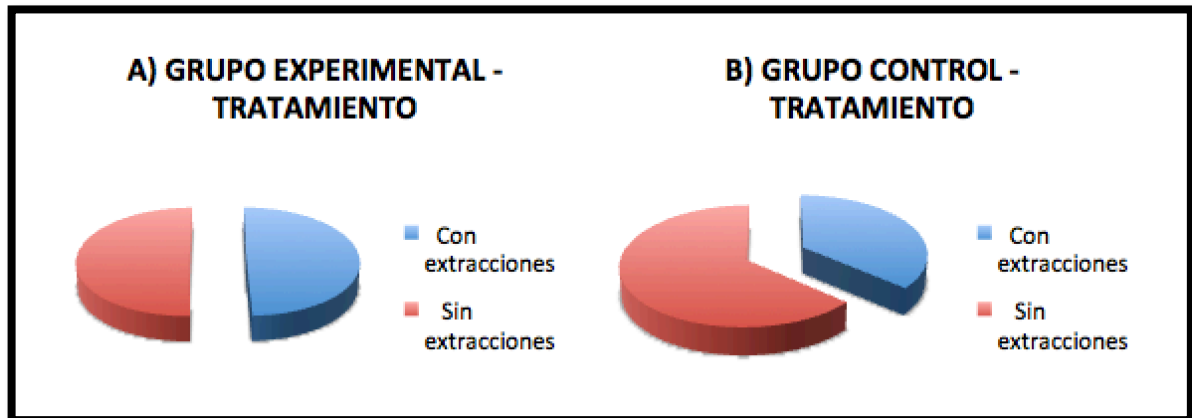


Figura 50, A. Distribución del grupo experimental en función del tratamiento llevado a cabo, con o sin extracciones. B. Distribución del grupo control en función del tratamiento llevado a cabo, con o sin extracciones.

La media del tiempo de tratamiento fue de $35,56 \pm 12,12$ meses para el grupo experimental y de $32,69 \pm 12,36$ meses para el grupo control (Figura 51). No hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre el tiempo de tratamiento y la RRAE.

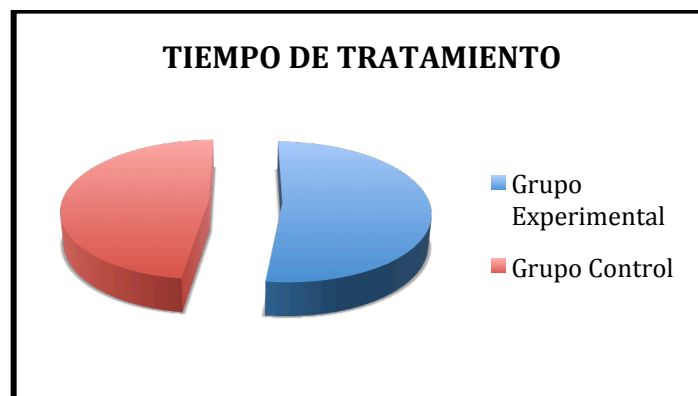


Figura 51. Medias de tiempo de tratamiento en el grupo experimental y grupo control.

Los parámetros clínicos analizados (edad, tiempo de tratamiento, sexo, clase de Angle, tratamiento con/sin extracciones) mostraron homogeneidad en la muestra obtenida sin mostrar asociación con la RRAE ($p > 0,05$), tal y como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Características clínicas de los pacientes examinados.						
Parámetros clínicos	> 2mm RRAE* pacientes (n= 121)	Controles (n=143)	valor P**	OR	95% IC para OR inferior superior	
Edad media[años]	18,63±9,1824	19,19±10,08	,632	1,006	,980	1,033
Sexo [n (%)]			,602	,874	,527	1,449
Mujer	74 (61,2%)	84 (58,7%)				
Hombre	47 (38,8%)	59 (41,3%)				
Clasificación Angle [n (%)]			,976	-	-	-
Clase I	61 (50,4%)	79 (55,2%)	,953	1,017	,580	1,782
Clase II	43 (35,5%)	47 (32,9%)	,857	,931	,427	2,028
Clase III	17 (14,0%)	17 (11,9%)				
Tratamiento [n (%)]			,099	1,559	,920	2,641
Con extracciones	60 (49,6%)	52 (36,4%)	-	-	-	-
Sin extracciones	61 (50,4%)	91 (63,6%)	-	-	-	-
Tiempo de tratamiento	35,56±12,12	32,69±12,36	,249	1,376	,966	1,009
RRAE: Reabsorción radicular apical externa; *al menos un incisivo maxilar; ** Analisis de regresión logística binaria. Variable dependiente= control vs >2mm RRAE pacientes						

Las distribuciones alélicas y genotípicas observadas en la muestra analizadas para el gen del *TGFB1* (rs1982073) se distribuyeron de la siguiente forma: Pacientes con reabsorción: (Frecuencias genotípicas: [TT: 34,7%; CT: 35,5%; CC: 29,8%]. Frecuencias alélicas: [T: 52,5%; C:47,5%]). Pacientes control: (Frecuencias genotípicas: [TT: 28%; CT: 37,8%; CC: 34,3%]. Frecuencias alélicas: [T: 46,9%; C: 53,1%]). La citosina representa el alelo menos frecuente en el grupo experimental, y más frecuente en el grupo control (Tabla 5).

Las distribuciones alélicas y genotípicas observadas en la muestra analizadas para el gen del *TGFB2* (rs452280) se distribuyeron de la siguiente forma: Pacientes con reabsorción: (Frecuencias genotípicas: [TT: 8,3%; CT: 22,3%; CC: 69,4%]. Frecuencias alélicas: [T: 19,4%; C:80,6%]). Pacientes control: (Frecuencias genotípicas: [TT: 25,2%; CT: 35%; CC: 39,9%]. Frecuencias alélicas: [T: 42,7%; C: 57,3%]). La citosina representa el alelo más frecuente en ambos grupos, experimental y control, siendo la timina el alelo de menor frecuencia (Tabla 5).

Tabla 5. Genotipos y frecuencias de los alelos del gen *TGFB* y del cluster del gen *TGFB*2, (rs1982073, rs4522809, rs1800469) en pacientes afectados y en grupo control.

Gen SNPs	> 2mm RRAE pacientes (n=121)					Controles (n=143)				
	Genotipo fr [n(%)]			Alelo fr [n(%)]		Genotipo fr [n(%)]			Alelo fr [n(%)]	
	TT	CT	CC	T	C	TT	CT	CC	T	C
<i>TGFB</i>1 (rs1982073)	42 (34,7)	43 (35,5)	36 (29,8)	127 (52,5)	115 (47,5)	40 (28,0)	54 (37,8)	49 (34,3)	134 (46,9)	152 (53,1)
<i>TGFB</i>2 (rs4522809)	10 (8,3)	27(22,3)	84(69,4)	47 (19,4)	195 (80,6)	36 (25,2)	50 (35,0)	57 (39,9)	122 (42,7)	164 (57,3)
<i>TGFB</i> (rs1800469)	19 (15,7)	57 (47,1)	45 (37,2)	95 (39,2)	147 (60,7)	22 (15,4)	65 (45,5)	56 (39,2)	109 (38,2)	177 (61,8)

RRAE: Reabsorción radicular apical externa; fr: frecuencias; SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido; *TGFB*: Factor de crecimiento transformante beta; *TGFB*2: Factor de crecimiento transformante beta receptor; TT: Timina Timina; CT: Citosina Timina; CC: Citosina Citosina; T: Timina; C: Citosina.

Las distribuciones alélicas y genotípicas observadas en la muestra analizadas para el gen del *TGFB* (rs1800469) se distribuyeron de la siguiente forma: Pacientes con reabsorción: (Frecuencias genotípicas: [TT: 15,7%; CT: 47,1%; CC: 37,2%]. Frecuencias alélicas: [T: 39,2%; C: 60,7%]). Pacientes control: (Frecuencias genotípicas: [TT: 15,4%; CT: 45,5%; CC: 39,2%]. Frecuencias alélicas: [T: 38,2%; C: 61,8%]). La citosina representa el alelo más frecuente en ambos grupos, experimental y control, siendo la timina el alelo de menor frecuencia (Tabla 5).

La muestra del presente estudio presentó porcentajes y distribuciones alélicas y genotípicas similares a los observados y descritos en población general.

A pesar de los indicios señalados en la literatura no se observó relación alguna entre las variaciones a nivel del gen *TGFB*1 (rs1982073) o el gen *TGFB* (rs1800469) y una mayor predisposición a sufrir RRAE tras realizar tratamiento ortodóncico. Ninguna de las potenciales combinaciones genotípicas de estos dos genes mostró significancia estadística en relación a una inducción o predisposición a sufrir RRAE asociada al tratamiento de ortodoncia fija. Respecto al gen *TGFB*1 (rs1982073), los heterocigóticos para los alelos CG resultaron en [OR:0,74; p=0,34; IC: 0,395-1,388], y los sujetos homocigóticos para el alelo C presentaron unos resultados tal como se indican [OR:0,65; p=0,194; IC: 0,339-1,245]. (Tabla 6)

Respecto al gen *TGFB* (rs1800469), los heterocigóticos para los alelos CT resultaron en [OR:0,838; p=0,646; IC: 0,393-1,785], y los sujetos homocigóticos para el alelo C presentaron unos resultados [OR:0,85; p=0,928; IC: 0,429-2,009] (Tabla 6).

Table 6. Cluster del gen <i>TGFB</i> genotipo (rs1982073, rs4522809, rs1800469) asociado con reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento de ortodoncia.					
Gen	SNP	Comparación genotípica	Odds ratio (ajustado)	95% IC	Valor p
TGFB1	rs1982073	GG Vs CG/CC			
		CG Vs CC/GG	0,741	,395 – 1,388	0,349
		CC Vs CG/GG	0,650	,339 – 1,245	0,194
TGFB2	rs4522809	TT Vs CT/CC			
		CT Vs CC/TT	1.969	,840 – 4,613	0,119
		CC Vs CT/TT	5,475	2,497 – 12,007	0,000***
TGFB	rs1800469	TT Vs CT/CC			
		CT Vs CC/TT	0,838	,393 – 1,785	0,646
		CC Vs CT/TT	,850	,429 – 2,009	0,928

RRAE: Reabsorción radicular apical externa; **IC:** Intervalo de confianza; **: p<0.05; ***: p<0.001; **SNP:** Polimorfismo de un solo nucleótido; **TGFB:** Factor de crecimiento transformante beta; **TGFB2:** Factor de crecimiento transformante beta receptor; **GG:** Guanina Guanina; **CG:** Citosina Guanina; **CC:** Citosina Citosina; **TT:** Timina Timina; **CT:** Citosina Timina

Lo más relevante y descrito por primera vez, cuando el genotipo menos frecuentes fue comparados con los otros dos en la muestra, se observó que los sujetos homocigotos con el genotipo 2/2 (CC) en el gen *TGFB2* (rs4522809) tienen 5,475 veces más riesgo [OR:5,475; p=0,000; IC: 2,497-12,007] de sufrir RRAE secundaria a un tratamiento de ortodoncia, con un intervalo de confianza del 95%. Sin embargo, los sujetos heterocigóticos para el alelo C en el mismo gen y localización no mostraron una asociación estadísticamente reseñable en cuanto a los resultados radiográficos descritos. [OR:1,969; p=0,119; IC: 0,84-4,613].

Asimismo cuando se analizó la potencial interferencia de los parámetros clínicos analizados en combinación con las localizaciones genéticas examinadas no se observó influencia de ninguno de los parámetros clínicos analizados así como de ninguna otra variación genética del *TGFB* estudiadas. Solamente los sujetos homocigóticos con el

genotipo 2/2 (CC) a nivel del gen *TGFBR2* (rs4522809) refirieron un mayor riesgo de sufrir RRAE secundario a tratamiento ortodóncico (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de regresión logística sobre la influencia de los parámetros clínicos y genéticos en la aparición de RRAE secundaria al tratamiento ortodóncico.

Parámetros clínicos y genotípicos	> 2mm RRAE* pacientes (n= 121)	Controles (n=143)	valor P**	OR	95% IC para OR inferior superior	
Edad media[años]	18,63±9,1824	19,19±10,08	,504	1,010	,982	1,038
Sexo [n (%)]			,299	,748	,432	1,294
Femenino	74 (61,2%)	84 (58,7%)				
Masculino	47 (38,8%)	59 (41,3%)				
Clasificación Angle [n (%)]			,928	-	-	-
Clase I	61 (50,4%)	79 (55,2%)	,881	1,047	,574	1,907
Clase II	43 (35,5%)	47 (32,9%)	,770	,885	,390	2,007
Clase III	17 (14,0%)	17 (11,9%)				
Tratamiento [n (%)]			,104	1,586	,909	2,767
Con extracciones	60 (49,6%)	52 (36,4%)	-	-	-	-
Sin extracciones	61 (50,4%)	91 (63,6%)	-	-	-	-
Tiempo de tratamiento	35,56±12,12	32,69±12,36	,323	,988	,965	1,012
TGFB1						
CC vs CG/GG	85(32,3%)	179(67,8%)	,194	,650	,339	1,124
CG vs CC/GG	97(36,7)	167(63,3%)	,349	,741	,395	1,388
GG vs CC/CG	82(31,1%)	182(68,9%)				
TGFBR2						
CC vs CT/TT	141(53,4%)	123(46,6%)	,000***	5,475	2,497	12,007
CT vs CC/TT	77(29,2%)	187(70,8%)	,119	1,969	,840	4,613
TT vs CC/TT	46(17,4%)	218(82,6%)				
TGFB						
CC vs CT/TT	101(38,3%)	163(61,7%)	,928	,850	,429	2,009
CT vs CC/TT	122(46,2%)	142(53,8%)	,646	,838	,393	1,785
TT vs CC/TT	41(15,5%)	223(84,5%)				

RRAE: Reabsorción radicular apical externa; *al menos un incisivo maxilar; ** Analisis de regresión logística binaria. Variable dependiente= control vs >2mm RRAE pacientes; OR: Odds ratio; IC: Intervalo de confianza; **TGFB**: Factor de crecimiento transformante beta; **TGFBR**: Factor de crecimiento transformante beta receptor; **CC**:Citosina Citosina; **CG**: Citosina Guanina; **GG**: Guanina Guanina; **CT**: Citosina Timina; **TT**: Timina Timina;

DISCUSIÓN

6- DISCUSIÓN

La RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia es una complicación muy común. Incluso cuando se utilizan protocolos clínicos similares al realizar los tratamientos de ortodoncia en pacientes con una misma maloclusión, la variabilidad en la severidad de la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia es una realidad imprevisible. La RRAE está influenciada por una combinación de factores ambientales y de factores genéticos, no solo se da en aquellos pacientes que han recibido tratamiento de ortodoncia. De acuerdo con diferentes autores, la mecánica empleada durante el tratamiento de ortodoncia, podría llegar a influir alrededor de un 25% en el desarrollo de la RRAE.²⁰⁶

En diferentes artículos publicados, se ha determinado, que con el fin de evaluar la presencia o ausencia de RRAE, una radiografía panorámica pre-tratamiento y otra post-tratamiento aportan suficiente precisión para realizar mediciones lineales, siempre y cuando la inclinación de la cabeza del paciente al realizarse la radiografía no exceda los 10°, y el plano oclusal se encuentre en una posición similar en ambas proyecciones.^{196,532} Estudios anteriores han determinado que la reabsorción radicular puede evaluarse adecuadamente con menos radiación utilizando una radiografía panorámica.^{191,73} Los errores de precisión absoluta, sin duda podrán registrarse mejor con un sistema de imagen 3D, una vez que este esté disponible y su uso sea éticamente justificable.⁵³³

Por otra parte, en un reciente estudio se ha evaluado el impacto en la percepción de la reabsorción radicular en función de la cantidad de inclinación incisal anteroposterior en las radiografías panorámicas. Se emplearon un modelo prototipo y se colocaron perlas de titanio en el borde incisal y apical de los dientes de estudio. Las longitudes se midieron desde el punto medio de la perla apical al punto medio de la perla incisal. Y se compararon las diferentes medidas al cambiar las inclinaciones de los incisivos para corregir la ampliación de la imagen. Los resultados mostraron que si los incisivos maxilares están severamente retroinclinados, la longitud era mayor a la esperada, mientras que si la retroinclinación era leve, la longitud era más o menos similar al modelo teórico. Si los incisivos maxilares están ligeramente proinclinados, apareció más corto de lo esperado. Por lo tanto en este artículo pusieron de manifiesto que la RRAE no se puede evaluar de forma fiable en las ortopantomografías.⁵³⁴

En general, las radiografías periapicales son proyecciones más precisas que las radiografías panorámicas para estos objetivos; no obstante, debemos tener en cuenta que la toma seriada de radiografías periapicales no es un tipo de práctica o arma diagnóstica que suele hacerse de forma estandarizada en los tratamientos de ortodoncia. La realización de este tipo de proyecciones paralelizadas y estandarizadas de radiografías periapicales, a pesar de ser las ideales, no son factibles hoy en día para el abordaje y clarificación de la hipótesis propuesta, por no estar éticamente justificadas, tal y como ocurre en el presente estudio.^{196,535}

Algunos autores, sin embargo, siguiendo los principios de ALARA,⁵³² consideran que es posible evaluar la reabsorción radicular con menos radiación usando radiografías lateral y/o panorámica. En este sentido, también hay que recordar que ni la serie de radiografías periapicales, ni el CBCT son registros estándar en el tratamiento de ortodoncia, y desde el punto de vista ético, aún no están completamente justificados para fines de investigación. Algunos autores, por otra parte, han concluido que una radiografía panorámica es suficientemente fiable para evaluar las mediciones lineales, si la inclinación de la cabeza en el plano anteroposterior se controla con una variación de 10° o menos.⁵³⁶ Por ese motivo, en el presente estudio hemos empleado radiografías panorámicas en lugar de radiografías periapicales, ni CBCT, siguiendo la metodología descrita por autores como Al-Qawasmi.¹⁹⁶ Incluso existen autores como Katona y cols. que han afirmado que ni siquiera las radiografías periapicales son fiables en la valoración de la RRAE, derivado de diferencias en la morfología apical.⁵³⁷

La radiografía panorámica es indiscutiblemente menos precisa que otros métodos radiográficos, debería considerarse que la RRAE se ha descrito que es subestimada hasta en un 20% de media al comparar radiografías panorámicas y radiografías periapicales.⁵³⁸ Esto significaría que una leve RRAE de 1mm puede ser sobreestimada en 0,2mm, dando una lesión de 1,2mm de reabsorción radicular que puede ser de relevancia en la investigación.

Cuando se utiliza el método citado en nuestro estudio, es poco probable que haya un sesgo importante en los valores de RRAE debido a la sobreestimación basado en inconsistencias en la medición de la RRAE. Estos autores concluyeron que cuando la RRAE en los incisivos maxilares, que son los mismos dientes que hemos seleccionados en el presente estudio, fueron medidas con las dos proyecciones, panorámicas y periapicales,

no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medidas en las radiografías panorámicas y en las radiografías periapicales.⁵³⁸ Algunos autores incluso han cuestionado la exactitud de las proyecciones periapicales para medir la RRAE debido a los errores derivados de la variabilidad en la forma del diente.⁵³⁹ Estudios recientes utilizan tomografía computerizada o tomografía de haz cónico. En este sentido, se ha señalado que no existen diferencias entre las radiografías periapicales e imágenes CBCT convencionales utilizados en ortodoncia al identificar defectos en las superficies mesial o lingual de la raíz. Otros autores^{540,541} han llegado a la conclusión de que los diferentes protocolos de CBCT, algunas con alta y otros con baja resolución, miden la RRAE con mayor precisión que la radiografía panorámica o periapical. Sin embargo, cuando se compararon las medidas de imágenes CBCT y las de las radiografías panorámicas para identificar la presencia y el grado de reabsorción radicular utilizando lesiones moderadamente graves simulada in vitro (1mm de reabsorción real), no hubo diferencias estadísticamente significativas en los resultados.⁵⁴⁰

A pesar de lo descrito anteriormente, el obtener una precisión absoluta a la hora de realizar las mediciones sobre imágenes en dos dimensiones como constituyen las proyecciones radiográficas es difícil, por lo que errores en relación a la precisión son prácticamente inevitables en este tipo de mediciones, hasta que en un futuro el empleo de un sistema en tres dimensiones esté totalmente justificado desde un punto de vista ético, concepto a día de hoy totalmente injustificado, ni legalmente admitido.⁵³³

Nosotros hemos adoptamos un método publicado previamente a la hora de realizar todas las mediciones, por lo que una comparación global podría hacerse entre nuestros resultados y los datos de otros estudios llevados a cabo en el mismo campo de investigación.^{196,241} La muestra la hemos dividido en dos grupos de estudio, en base a la existencia o no de RRAE mayor de 2mm una vez finalizado el tratamiento ortodóncico, tal y como ha sido previamente descrito por diferentes autores en la literatura.^{196,241,243,293} En el primer grupo, grupo control, se han incluido a los pacientes que no presentaban RRAE o que la presentaban con un valor inferior a 2mm, y en el segundo grupo, grupo experimental, se han incluido a los pacientes que presentan una RRAE igual o superior a 2mm. De cada paciente se midió el incisivo central o lateral superior que presentaba la mayor longitud antes de comenzar el tratamiento ortodóncico o, en su defecto, el de mayor grado de reabsorción tras finalizar el tratamiento ortodóncico. Para prevenir el error

interobservacional, todos los procedimientos han sido realizados por el mismo observador experimentado y calibrado (N.N.N).

Por otra parte, existen estudios que afirman que es difícil identificar RRAE inferiores a 2mm con precisión.⁵⁴⁷ Es por ello que en el presente estudio hemos seleccionado todas las radiografías digitales, y hemos empleado un software de medidas (AUTOCAD 2015) que permite escalar la imagen, siendo corregido el factor de magnificación en cada caso y además emplea filtros de imagen para optimizar la precisión a la hora de localizar los puntos terminales de las raíces.

Para la valoración del grado de reabsorción observado nosotros hemos empleado el método de Linge L y Linge BO¹⁹⁰ para medir la longitud de la raíz del diente seleccionado pre- y post-tratamiento y determinar los cambios de la longitud dental y radicular. Este método, modificado posteriormente por Brezniak y cols. en el 2004,⁵²⁴ ha sido utilizado por otros autores en estudios similares al propuesto,^{226,243} es por ello que nosotros lo hemos seleccionado. Pero en la literatura podemos encontrar otros métodos para determinar el grado de RRAE. Gülden y cols.²⁴⁴ determinaron el grado de RRAE usando proporciones corona/raíz, calculando la RRAE de cada diente desde el primer molar hasta el incisivo central en cada cuadrante, por lo que la RRAE sería el global de todos los dientes medidos. Es por esta razón que nosotros no seleccionamos este método. La RRAE es más prevalente en los incisivos centrales superiores, seguido de los incisivos laterales superiores, de los incisivos inferiores y del primer molar.^{68,71,75,190} Pereira y cols. en su estudio,²⁴² también calcularon el ratio de RRAE con la proporción corona/raíz en los incisivos centrales superiores y caninos de cada paciente. Nosotros no hemos calculado de acuerdo a este método, debido a que los caninos superiores no están clasificados como dientes con una alta incidencia de RRAE, lo cual, consideramos, puede repercutir en el ratio final de RRAE en los incisivos.

Recientemente diferentes estudios llevados a cabo por diferentes autores en esta área de ortodoncia, han determinado la susceptibilidad adquirida genéticamente.^{196,243,244,293,341,395} Una combinación potencial de variables genéticas con diferentes frecuencias genotípicas podría determinar una mayor o menor susceptibilidad a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia. El presente estudio tiene como fin

contribuir a una mayor evidencia de la influencia genética en la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.

Es necesario y esencial la construcción de un mapa genético de enfermedades para la práctica ortodóncica diaria, que nos permita identificar aquellos perfiles con una mayor predisposición a padecer una RRAE previo al inicio del tratamiento de ortodoncia.

En los últimos años, han sido estudiados por diferentes autores diferentes biomarcadores genéticos (*genes del cluster de la IL1 (IL1B, IL1A, IL1RN), P2RX7, CASP1, OPG (TNFRSF11B), RANK (TNFRSF11A), Osteopontin (OPN), TNF α y TNSALP*) que han sido descritos en asociación con un aumento o reducción de la susceptibilidad a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia (Tabla 8).^{73,181,196,241,244,246,248,293}

Tabla 8: Genes estudiados debido a su influencia en la reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento de ortodoncia.										
ESTUDIOS /GENES	<i>IL1β</i>	<i>IL1α</i>	<i>IL1RN</i>	<i>P2RX7</i>	<i>CASP1</i>	<i>TNFRSF11A</i>	<i>TNFRSF11B</i>	<i>OSTEOPONTIN</i>	<i>TNFA</i>	<i>TNSALP</i>
Al-Qawasmi et al. (2003a). ¹⁹⁶	↑ Polimorfismo en posición +3954, (P=0.0003, OR=5.6, 95% IC, 1.9-21.2)	X Gen <i>IL1A</i> (-899) no asociado.								
Al-Qawasmi et al. (2003b). ²⁴⁸						↑ D18S64 marcador de polimorfismo (Ligeramente ligada a <i>TNFRSF11A</i> (<i>RANK</i>)) (LOD = 2.5; P = 0.02)			X No hay evidencia de vinculación	X No hay evidencia de vinculación
Shank et al. (2007). ³⁶⁸	X Polimorfismo C113316646T (P=0.8458)					X Polimorfismo gen <i>RANK-L</i> A42076671G (P=0.1352)	↑ Polimorfismo gen <i>OPG</i> G1181C alelo (Lys3Asn) rs2073618 P=0.003			
Bastos Lages et al. (2009). ²⁴³	↑ Polimorfismo en posición +3954, (2/2 vs 1/2 1 1/1; P=0.0349, OR=4.0, 95% IC, 1.23 -12.9.) (2/2 vs 1/1; P 5 0.0095 OR =7.33; 95% IC=5 1.81 - 29.6;.)									
Gülden et al. (2009). ²⁴⁴	X Polimorfismo en posición +3954,	↑ Gen <i>IL1A</i> (-899) (P<0,032)								
Iglesias Linares et al. (2012). ²⁴¹	↑ Polimorfismo en posición +3953C, rs1143634, (rs1800587) OR: 3.47; P=0.027; 95%IC 1,12-10,72	X Gen <i>IL1A</i> (-889) rs1800587, OR: 2.51; P=0.097; 95%IC 0,8-7,57	↑ <i>IL1RN</i> (+2018), rs419598, OR: 6,75; P=0.001; 95%IC 2,04-22,27							

Continuación de la Tabla 8.									
Iglesias Linares et al. (2013). ²⁴⁵							<p>↑ Sujetos homocigóticos [1/1(TT)] para el gen <i>IL1RN</i> (rs419598) [OR: 10.85; P=0.001; IC: 95%]</p>		
Linhartova et al. (2013). ²⁴⁶	X Polimorfismo en posición (+3953C/T)	X Gen <i>IL1A</i> (-889C/T)	X Gen <i>IL1RN</i> VNTR variante en mujeres – alelo corto (con 2 repeticiones solo) OR = 2.50, P = 0.020, 95%IC: 1.13–5.53				<p>↑ <i>IL1RN</i> VNTR variante en mujeres – alelo corto (con 2 repeticiones solo) OR = 2.50, P = 0.020, 95%IC: 1.13–5.53</p>		
Iglesias Linares et al. (2013). ³⁹⁵							<p>↓ Gen en posición 89261521 (alelo A) y 89253600. [OR: 0.035 (P = 0.035*)</p> <p>↑ Sujetos homocigóticos [2/2 (CC)] para el gen de la <i>OSTEOPONTINA</i> (rs9138). [OR: 4.10; P = 0.045*, IC: 95%].</p> <p>↑ Homocigóticos [2/2 (CC)] para el gen de la <i>OSTEOPONTINA</i> (rs11730582). [OR: 11.68; P < 0.039*, IC: 95%]</p>		
Pereira et al. (2014). ²⁴²	X Polimorfismo en posición +3954.				X rs1805034 de <i>TNFRSF11A</i> (Codificación RANK)	X rs3102735 de <i>TNFRSF11B</i> (Codificación OPG)			
Sharab et al. (2015). ⁵²¹	X Polimorfismo gen <i>IL1B</i> ; +3953C. rs1143634 (P=0.0533)	X Polimorfismo gen <i>IL1A</i> ; rs1800587	X Polimorfismo gen <i>IL1R4</i> ; rs419598	<p>↑ Polimorfismo gen <i>P2RX7</i> (rs1718119). (P=0.010)</p> <p>Polimorfismo gen <i>P2RX7</i>; rs208294 (P=0.0028) CC&CT vs. TT</p> <p>X rs1718119</p> <p>X rs2230912</p>	X Polimorfismo gen <i>CASP1</i> ; rs530537 rs580253 rs554344				
RRAE, Reabsorción radicular apical externa; X, no asociación con RRAE; ↑ Asociada con RRAE; OR, odds ratio; IC, Intervalo de Confianza; LOD, logaritmo de odds (base de 10)									

Las variaciones a nivel de los genes descritos en la Tabla 8 han sido estudiadas debido a su influencia especialmente sobre el metabolismo óseo así como otros procesos de intercambio mineral.

Fue el estudio realizado por Al-Qawasmi y cols. en 2003,¹⁹⁶ el pionero en este tipo de estudios de asociación genética y RRAE. Hasta la fecha, varios autores han investigado la asociación entre la IL-1 β +3954 C> T polimorfismo y el riesgo de padecer RRAE en pacientes con tratamiento de ortodoncia.^{196,241-244,246,368,293} También el gen de *IL1A* (-889 y -899) ha sido estudiado.^{196,241,244,246,293} Otros autores estudiaron el gen *IL1RN*.^{241,245,246,293} Por otra parte también han sido estudiado los genes *P2RX7*,^{242,293} *CASPI*,²⁹³ *RANK* (*TNFRSF11A*),^{242,248,368} *OPG* (*TNFRSF11B*),^{242,368} Osteopontin (*OPN*),³⁹⁵ *TNF α* and *TNSALP*²⁴⁸. Pero de acuerdo a nuestros conocimientos e investigaciones, nadie hasta la fecha ha estudiado la relación entre el gen *TGFB* y la RRAE.

Al-Qawasmi y cols. en 2003,^{196,248} llevaron a cabo sus estudios en familias Americanas. Contaron con una muestra inferior a la de nuestro estudio, con 118 pacientes en su primer estudio¹⁹⁶ (edad media de 12,1 años y media de tiempo de tratamiento de 2,82 años) y con 124 pacientes en su segundo estudio (edad media de 12,3 años y media de tiempo de tratamiento de 2,77 años).²⁴⁸ A pesar de tratarse un estudio de evidencia de ligamiento genético intrafamiliar, la metodología aplicada fue muy similar a la nuestra, pero en estos estudios midieron la RRAE en radiografías panorámicas y en telerradiografías. Y los dientes de estudio fueron el incisivo central maxilar y el incisivo central mandibular con mayor longitud radicular y la raíz mesial y distal de ambos primeros molares mandibulares. En nuestro estudio realizamos las medidas en ortopantomografías iniciales y finales de los pacientes. Los dientes de estudio fueron el incisivo central o lateral superior que presentase la mayor longitud antes de comenzar el tratamiento ortodóncico o, en su defecto, el de mayor grado de reabsorción tras el tratamiento ortodóncico. Tras la revisión de la literatura consideramos que estos son los dientes que mayor grado de reabsorción sufren tras finalizar el tratamiento de ortodoncia y determinamos medir estos dientes para no alterar los resultados al realizar las medias de RRAE si hubiésemos medidos otros dientes con menor grado de reabsorción.^{16,71,181}

La muestra empleada por otros autores²⁴³ se compuso de 61 pacientes brasileños (23 grupo experimental y 38 grupo control), mientras que en el presente estudio contamos con 264

pacientes españoles, de los cuales 121 pacientes constituían el grupo experimental y 143 el grupo control lo cual contribuye a dar robustez a las conclusiones extraídas y capacidad de extrapolabilidad a la clínica real. La edad media de los pacientes fue muy semejante a nuestro estudio, de 18,9 años \pm 5 años y 2 meses, y la nuestra fue de 18,93 años \pm 9 años y 6 meses. Pero en su estudio, a diferencia que nosotros, Bastos Lages y cols.²⁴³ determinaron la relación entre un polimorfismo del gen *IL1B* y la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia y determinaron que la variación del gen *IL1B* (+3954), provocaba un riesgo incrementado de padecer RRAE.²⁴³ En este sentido, otros autores, Gülden y cols.,²⁴⁴ contaron con una muestra total inferior, pero muy semejante a la del presente trabajo, contando con 258 pacientes (96 grupo experimental y 162 grupo control), pero una distribución muy diferencial entre ambos grupos estudiados. Por su parte, asociaron el polimorfismo del gen *IL1A* (-889) y el gen *IL1B* (+3954) con la aparición de RRAE.²⁴⁴ En este estudio analizaron las medidas radiográficas de todos los dientes, desde incisivos centrales hasta primeros molares en los cuatro cuadrantes, y en sus resultados mostraron un mayor grado de reabsorción en los cuatro incisivos superiores. Posteriormente, nuestro grupo de investigación, (Iglesias-Linares y cols.)^{241,245} estudió el riesgo de padecer RRAE en sujetos con *IL1B* (+3953 CC) genotipo observando que se producía un aumento en estos pacientes, y no encontraron asociación significativa para *IL1A* (-889C/T) en su estudio. Contaron con una muestra de 54 pacientes españoles en su primer estudio,²⁴¹ (de los cuales 39 constituyeron el grupo experimental y 54 el grupo control) y con 93 pacientes españoles en su segundo estudio.²⁴⁵ Otro gen estudiado por estos autores fue la *IL1RN*^{241,245} y encontraron asociación altamente significativa con la RRAE, pero en su segundo trabajo, el objeto de estudio fueron dientes que habían sido previamente endodonciados.²⁴⁵ La edad media de tratamiento en este segundo trabajo fue de 24 años y 1 mes (\pm 5 años 5 meses), superior a la nuestra que fue de 18,93 meses \pm 9 años y 6 meses. Mientras que el tiempo medio de tratamiento fue de 27,21 meses (\pm 4 años 9 meses), siendo superior en el presente trabajo de 34 meses de tratamiento

Estudios desarrollados por otros autores posteriormente²⁴⁶ contaron con una muestra total muy inferior a la nuestra, de 105 pacientes de origen Checo, de los cuales 32 pacientes formaban el grupo experimental (edad media de tratamiento de 15 años \pm 4,1 años) y 74 el grupo control (edad media de tratamiento de 15,2 años \pm 5,3 años). En este caso los genes estudiados fueron la *IL1B*, *IL1A* y la *IL1RN*, de los cuales solamente el *IL1RN* se observó asociado con la RRAE (P=0,020) en población de origen Checo.²⁴⁶

Entre los artículos más recientemente publicados en este campo, está el estudio de Sharab y cols.²⁹³ en 2015. Llevaron a cabo un estudio muy completo de casos y controles. Contaron con una muestra de 134 pacientes, de los cuales 67 constituían el grupo experimental (38 mujeres y 29 hombres) y 67 pacientes formaban el grupo control (38 mujeres y 29 hombres). La edad media de tratamiento fue de 15,7 en ambos grupos, y la media de tiempo de tratamiento fue de 2 años y 5 meses en el grupo experimental y 1,97 años en el grupo control. En este estudio se midieron los 4 incisivos maxilares y otras medidas cefalométricas. Los genes estudiados fueron *IL1B*, *IL1A*, *IL1RN*, *P2RX7* y *CASP1*, pero solo el polimorfismo del gen *P2RX7* (rs208294) fue estadísticamente significativo ($P=0,0028$) al asociarse con la RRAE.²⁹³ Pereira y cols.²⁴² en su estudio realizado en 2014, a diferencia que en el de Sharab, encontraron que solo el polimorfismo del gen *P2RX7* (rs1718119) tenía asociación con la RRAE ($P=0,010$), mientras que Sharab no encontró asociación con este polimorfismo.

También, recientemente Iglesias-Linares y cols.³⁹⁵ determinaron que el gen de la Osteopontina (rs9138 and rs11730582) podría predisponer genéticamente a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia. En su estudio contaron con una muestra de 87 pacientes procedentes del departamento de ortodoncia de la Universidad de Sevilla.³⁹⁵ Tal y como se había demostrado, de forma concisa, el modelo de ratones knockout OPN/- modificados genéticamente con ablación del gen para la OPN, se concluyó que la osteopontina es un mediador necesario en la RRAE secundaria al movimiento dental en el humano igualmente.³⁹³

En el presente trabajo de investigación se analizó la presencia de variaciones a nivel del *TGFB* en relación a la aparición de RRAE post-ortodóncica. A este respecto, previamente ha sido determinado que la presencia del TGF- β favorece la proliferación de osteoblastos de una manera dosis-dependiente en todas las superficies que fueron cultivados,^{503,505} así como la importancia que el TGF- β y sus isoformas 1, 2 y 3 tienen a la hora de inducir la diferenciación de las células del ligamento periodontal y la síntesis de proteínas no colágenas de la matriz extracelular.⁵⁰⁴ También han existido autores que han demostrado que el TGF- β 1 favorece la regeneración ósea en defectos tipo II con técnicas de regeneración tisular guiada o sin ellas.^{508,510} Así como que estimulan los procesos de cicatrización en los pacientes que presentaban enfermedad periodontal crónica.⁵⁰⁹ Se ha

determinado que la efectividad del TGF- β en procedimientos de regeneración ósea depende en gran medida del sistema en que se vehiculiza.⁵¹²

De acuerdo a nuestro conocimiento e investigaciones, hasta el momento, no existe ningún estudio que haya determinado la asociación directa entre el *TGFB* y la susceptibilidad a la RRAE. Es por eso que el objetivo de este trabajo de investigación era determinar si sujetos con variaciones genéticas a nivel del gen del *TGFB* (rs1982073, rs4522809, rs1800469) presentaban una predisposición o riesgo aumentado de sufrir RRAE en aquellos pacientes que son tratados con ortodoncia. Se ha descrito un polimorfismo que aumenta la secreción del *TGFB*, y si es cierto que el TGF- β aumenta la mineralización ósea es potencialmente posible que durante el proceso de remodelado secundario a la presión producida sobre el diente con las fuerzas ortodóncicas, las raíces podrían sufrir una mayor RRAE, debido a que el hueso alrededor de la raíz del diente tendría un componente de mineralización superior. No obstante y a pesar de todo lo descrito, tras comprobar nuestros resultados, se ha determinado que las variantes del gen *TGFB* (rs1982073 y rs1800469) no guardan relación alguna con la RRAE. Por el contrario, sí se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el receptor 2 de *TGFB* (*TGFBR2* (rs4522809)) y un mayor riesgo de sufrir RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.

Tras analizar nuestros resultados nos preguntamos que explica la asociación existente entre la RRAE y el *TGFBR2* (rs4522809). A este respecto nuestro grupo de investigación llevo a cabo en 2013 un estudio, mencionado anteriormente, en el cual se describía que el gen de la Osteopontina (rs9138 and rs11730582) predispone genéticamente a padecer RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.³⁹⁵ Asimismo Biros y cols., en su estudio publicado en 2009, sugieren que el *TGFBR2* (rs4522809) se asocian con la secreción alterada de osteopontina, apoyando el papel de factor de crecimiento transformante beta en la producción de osteopontina.⁵⁴³ En 2012, Piva y cols. del mismo modo afirmaron que sus hallazgos sugieren que la Osteopontina media cambios en la inflamación, y que el *TGFB* tiene un papel en la compleja regulación de la expresión de la osteopontina.⁵⁴⁴ Por tanto, conociendo la habilidad que el *TGFBR2* tiene de activar indirectamente la región promotora del gen de la Osteopontina, los resultados del presente trabajo nos permiten especular que si el genotipo podría estar correlacionado con la expresión del gen de la osteopontina en los pacientes de ortodoncia. Esto implicaría un papel combinado de complejas relaciones moleculares entre la osteopontina y el TGF- β que implicaría un aumento en la predisposición a sufrir RRAE en dientes sometidos a fuerzas ortodóncicas.

Adicionalmente, por otra parte, en 2009, Lim y colaboradores,⁵⁴⁵ realizaron un estudio en modelo animal para demostrar que bajo el balance entre TGF- β y IL-1 β subyacía el desarrollo de la osteoartritis temporomandibular. De este modo, explicaban que la IL-1 β inhibe la expresión de TGF- β como parte del desarrollo de la patología. En dicho estudio se empleó un modelo de ratón “*wild-type*” y un modelo de ratón osteoartítico Coll-IL1 β XAT para demostrar la inversa relación en la expresión entre IL-1 β y TGF- β . Los autores concluyeron que etiológicamente la IL-1 β estaba relacionada con la patología articular y que además inhibía la expresión de TGF- β . Y el TGF- β , por el contrario, se relacionó con la mejora de la patología articular. Por lo tanto, se ha asociado al TGF- β con la regeneración articular, describiendo nuevamente el papel de este factor en el aumento de mineralización que podría explicar, al menos parcialmente los resultados determinados en este estudio clínico/genético presentado.

Una vez que las fuerzas traumáticas ortodóncicas son eliminadas, un proceso reparativo tiene lugar y el proceso de reabsorción radicular cesa.^{47,186,265,546} Se ha sugerido que la aplicación de fuerzas intermitentes puede resultar en menos efectos perjudiciales sobre la superficie de la raíz, proporcionando los períodos de descanso que son necesarias para la reorganización del ligamento periodontal y la restauración espontánea del cemento, es decir, curación de las lagunas de reabsorción.⁵⁴⁷ Sawicka y cols. al comparar la aplicación de fuerzas continuas frente a fuerzas intermitentes durante el movimiento de ortodoncia, detectaron que con las fuerzas intermitentes, la reabsorción radicular producida es menor para conseguir un movimiento ortodóncico similar.⁵⁴³

Podría ocurrir una remodelación de los bordes afilados y ásperos de las superficies radiculares reabsorbidas.

En cuanto a las implicaciones en la práctica clínica, una mejor comprensión de los factores genéticos que pueden predisponer a los individuos a padecer RRAE, sobre todo si se combina con el tratamiento de ortodoncia, pueden ayudar a identificar a aquellas personas con mayor susceptibilidad a padecer RRAE antes de iniciar el tratamiento de ortodoncia.

La implicación directa se ejemplificaría en que si una predisposición familiar puede ser documentada (para influir en el grado de RRAE), se reconocería a aquellos pacientes con una mayor predisposición individual y se podría más estrechamente monitorear a aquellos pacientes en riesgo y desacelerar o interrumpir el tratamiento.^{523,549}

Se deben de tener en cuenta una serie de medidas preventivas para la práctica clínica diaria. Es necesario tener ortopantomografía de inicio para evaluar la reabsorción radicular antes de comenzar el tratamiento de ortodoncia en cada paciente individual. Resulta fundamental realizar una anamnesis correcta del paciente y familiar, la cual puede ayudar a identificar las situaciones de riesgo o predisposiciones. Es importante informar a los pacientes de ortodoncia sobre los riesgos antes del tratamiento, y si se produce RRAE, el paciente debe ser informado de la situación. Del mismo modo es recomendable aplicar fuerzas ligeras y dejar intervalos largos entre las activaciones en los tratamientos de ortodoncia para evitar la aparición de RRAE.⁶⁷ Asimismo se recomienda la realización de radiografías seriadas obtenidas a los 6-12 meses porque pueden ayudar a detectar la reabsorción temprana de la raíz, y si se identifica la reabsorción, una pausa de dos o tres meses en el tratamiento con un arco de alambre pasivo podría ayudar a evitar una mayor reabsorción.⁶⁷

Se sabe que pacientes con predisposición a padecer RRAE podrían experimentarla ya en las fases iniciales de alineamiento y nivelación. Existen muy pocos estudios que han explorado esta hipótesis.^{188,550} Algunos autores evaluaron 390 dientes de 98 pacientes.⁵²⁴ En este estudio, la longitud total del diente, la longitud de la raíz y la altura de la corona fueron medidas desde el comienzo del tratamiento, a los 3 meses y hasta los 9 meses, y los cuatro incisivos superiores mostraron reabsorción radicular en el primer periodo de tratamiento (T0-T1) y, excepto el diente 12, las cantidad de reabsorción de los incisivos maxilares fueron estadísticamente significativa ($P < .05$). Este hallazgo coincide con el de Levander et al. y Artur et al.⁵⁵¹ Sin embargo, Levander y cols.⁵⁵² evaluaron los incisivos maxilares a los 3 y a los 6 meses, mientras Kocadereli y cols.⁵⁵³ evaluaron 3 meses mas (9 meses) para valorar que la RRAE aumenta con el tiempo. Además, en el estudio Kocadereli, todas las radiografías se tomaron con mayor frecuencia que en el estudio de Artun y cols.⁵⁵¹ Todos ellos concluyeron que la RRAE de los incisivos maxilares se puede detectar en las etapas iniciales del tratamiento de ortodoncia. A pesar de que la RRAE está también fuertemente asociada a la duración del tratamiento entre otros muchos factores, la aparición prematura de este tipo de patología pone de manifiesto la evidencia de un fondo genético que predispone a este tipo de patología.

Por otra parte, Reitan afirmó que la reabsorción esta activa alrededor de una semana después de la retirada del aparato, seguido por la reparación de cemento que tiene una duración de 5 a 6 semanas tras la inactividad ortodónica. Esto podría explicar los 0,1 mm

de la pérdida de la raíz apical observados en el estudio de Copeland y Verde.⁵⁵⁴ La reabsorción radicular después del tratamiento se relaciona principalmente con otras causas, como el traumatismo oclusal, retenedores activos y otros.⁵⁵⁵ Hay autores que sugieren que es imprescindible detectar las piezas que están sufriendo reabsorción radicular y consultar con el endodoncista, para así realizar o no un tratamiento conservador y evitar que continúe con la destrucción radicular, a pesar de que sabemos que la reabsorción radicular cesa en el momento en el que es eliminada la fuerza ortodóncica y se inicia el proceso de reparación de la zona comprometida de cemento acelular.

Tal y como se expone, existen diversos criterios y conceptos en relación a la RRAE así como un amplio desconocimiento de este proceso celular y molecular. Una mejor comprensión de la etiología de la RRAE es necesaria para mejorar la capacidad de predecir su ocurrencia. Aunque la RR puede aparecer en ausencia del tratamiento de ortodoncia, los estudios sugieren que su incidencia puede aumentar durante el tratamiento ortodóncico. Los ortodoncista deben explicar a sus pacientes los factores de riesgos potenciales que conducen a la RRAE, y las probabilidades de que esta suceda. Los estudios han indicado que dos tercios de la variación observada en la RRAE se asocian a variaciones genéticas en los pacientes de ortodoncia.^{16,181,293} Sin embargo, la determinación de estos factores genéticos es incompleta, por lo que se requieren un mayor número de estudios para incluir más factores genéticos y clínicos que condicionan la aparición de la RRAE. Una combinación de ambos, factores genéticos y factores de tratamiento, pueden condicionar en un paciente un mayor riesgo de RRAE durante el tratamiento de ortodoncia.

Creemos que en un futuro, existirán mayor cantidad de estudios genéticos que podrán determinar con exactitud la naturaleza exacta de la RRAE, y que el conocimiento genético nos ayudara a disminuir o incluso llegar a eliminar este efecto secundario de los tratamientos de ortodoncia. Asimismo la incertidumbre sobre el tipo de práctica clínica que acontecerá en el futuro de la ortodoncia, no excluye la posibilidad de que la biomedicina tome parte activa en el día a día del ortodoncista, como muchas otras mejoras implementadas en nuestra práctica diaria en ortodoncia que eran impensables hace no más de medio siglo.

CONCLUSIONES

7- CONCLUSIONES

En base a los resultados descritos, concluimos que:

1. Heredar un alelo específico del gen del factor de crecimiento transformante- β (*TGFBR2* (rs4522809)) es un factor determinante de la susceptibilidad genética a padecer reabsorción radicular apical externa en pacientes que reciben un tratamiento de ortodoncia. Los sujetos homocigotos con el genotipo 2/2 (CC) en el gen *TGFBR2* (rs4522809) tenían 5,475 veces más riesgo de sufrir reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento de ortodoncia (intervalo de confianza 95%).
2. No se observó relación alguna entre las variaciones a nivel del gen *TGFB1* (rs1982073) o el gen *TGFB* (rs1800469) y una mayor predisposición a sufrir reabsorción radicular apical externa tras realizar el tratamiento ortodóncico.
3. Ninguno de los parámetros clínicos analizados en la muestra del presente trabajo mostraron asociación estadísticamente significativa con la reabsorción radicular apical externa ($p > 0,05$).
4. Hasta la fecha, el presente estudio es el primer trabajo *in vivo* realizado en humanos que sienta las bases y describe la asociación entre los polimorfismos del cluster de genes del *TGFB* y la reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento de ortodoncia.

BIBLIOGRAFÍA

8- BIBLIOGRAFÍA

1. Patel S, Ford TP. Is the resorption external or internal? *Dent Update* 2007;34:218-29.
2. Bille ML, Nolting D, Kvetny MJ, Kjaer I. Unexpected early apical resorption of primary molars and canines. *Eur Arch Paediatr Dent* 2007;8:144-9.
3. Bille ML, Kvetny MJ, Kjaer I. A possible association between early apical resorption of primary teeth and ectodermal characteristics of the permanent dentition. *Eur J Orthod* 2008;30:346-51.
4. Brezniak N, Wasserstein A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part I: The basic science aspects. *Angle Orthod* 2002;72:175-9.
5. Fuss Z, Tsesis I, Lin S. Root resorption--diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. *Dent Traumatol* 2003;19:175-82.
6. Ousehal L, Lazrak L, Essmaali FE, Ngom PI. Apical root resorption in patients wearing orthodontic appliances. *Odontostomatol Trop* 2012;35:12-8.
7. Topkara A. External apical root resorption caused by orthodontic treatment: A review of the literature. *Eur J Paediatr Dent* 2011;12:163-6.
8. Brezniak N, Wasserstein A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: The clinical aspects. *Angle Orthod* 2002;72:180-4.
9. Harokopakis-Hajishengallis E. Physiologic root resorption in primary teeth: Molecular and histological events. *J Oral Sci* 2007;49:1-12.
10. Yildirim S, Yapar M, Sermet U, Sener K, Kubar A. The role of dental pulp cells in resorption of deciduous teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 2008;105:113-20.
11. Henry JL, Weinmann JP. The pattern of resorption and repair of human cementum. *Journal of the American Dental Association* 1951;42:270-90.
12. Massler M, Malone AJ. Root resorption in human permanent teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1954;40:619-33.
13. Balducci L, Ramachandran A, Hao J, Narayanan K, Evans C, George A. Biological markers for evaluation of root resorption. *Arch Oral Biol* 2007;52:203-8.
14. Sehr K, Bock NC, Serbesis C, Hönemann M, Ruf S. Severe external apical root resorption--local cause or genetic predisposition? *J Orofac Orthop* 2011;72:321-31.
15. Newman WG. Possible etiologic factors in external root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1975;67:522-39.
16. Harris EF, Kineret SE, Tolley EA. A heritable component for external apical root resorption in patients treated orthodontically. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997;111:301-9.
17. Kornman KS, Crane A, Wang HY, Di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997;24:72-7.
18. Gore EA, Sanders JJ, Pandey JP, Palesch Y, Galbraith GMP. Interleukin-1B +3953 allele 2: Association with disease status in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998;25:781-5.
19. Bates S. Absorption. *Br.J. Dent.Sci* 1856;1:256.
20. Ottolengui R. The physiological and pathological resorption of tooth roots Items of Interest 1914;36:332-62.
21. Oshiro T, Shibasaki Y, John Martin T, Sasaki T. Immunolocalization of vacuolar-type H⁺-ATPase, cathepsin K, matrix metalloproteinase-9, and receptor activator of

- NFkB ligand in odontoclasts during physiological root resorption of human deciduous teeth. *Anat Rec* 2001;264:305-11.
22. Tyrovola JB, Spyropoulos MN, Makou M, Perrea D. Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system: a mini review. *J Oral Sci* 2008;50:367-76.
 23. Gómez A, Trujillo S, Azuero M. Reabsorción radicular en dentición permanente: artículo de revisión. *Rev. Univ. odontol* 2002;22:41-5.
 24. Götz W, Quondamatteo F, Ragotzki S, Affeldt J, Jäger A. Localization of cathepsin D in human odontoclasts. A light and electron microscopical immunocytochemical study. *Connect Tissue Res* 2000;41:185-94.
 25. Linsuwanont-Santiwong B, Takagi Y, Ohya K, Shimokawa H. Expression of MT1-MMP during deciduous tooth resorption in odontoclasts. *J Bone Miner Metab* 2006;24:447-53.
 26. Bakland LK. Root resorption. *Dent Clin North Am* 1992;36:491-507.
 27. Lambrechts P, Vanhoorebeeck B. Root resorption. *Revue belge de médecine dentaire. Belgisch tijdschrift voor tandheelkunde* 1992;47:54-75.
 28. Killiany DM. Root resorption caused by orthodontic treatment: an evidence-based review of literature. *Semin Orthod* 1999;5:128-33.
 29. Harvey BLC, Zander HA. Root surface resorption of periodontally diseased teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1959;12:1439-43.
 30. López NJ, Gigoux C., Canales ML. Morphologic and histochemical characteristics of the dental cuticle in teeth affected by prepubertal periodontitis. *J Periodontol* 1990;61:95-102.
 31. Bosshardt DD, Schroeder HE. How repair cementum becomes attached to the resorbed roots of human permanent teeth. *Acta Anat* 1994;150:253-66.
 32. Abelleira AC, Rodríguez Cobos MA, Fuentes Boquete IM, Castaño Oreja MT, Jorge Barreiro FJ, Rodríguez Pato RB. Morphological study of root surfaces in teeth with adult periodontitis. *J Periodontol* 1999;70:1283-91.
 33. Patel S, Ricucci D, Durak C, Tay F. Internal Root Resorption: a review. *J Endod* 2010;36:1107-21.
 34. Levin L, Trope M. Root resorption. In: Hargreaves KM, Goodis HE, eds. *Seltzer and Bender's dental pulp*. Chicago, IL: Quintessence Publishing Co Inc 2002;425-48.
 35. Lyrroudia KM, Dourou VI, Pantelidou OC, Labrianidis T, Pitas IK. Internal root resorption studied by radiography, stereomicroscope, scanning electron microscope and computerized 3D reconstructive method. *Dental Traumatology* 2002;18:148-52.
 36. Andreasen JO, Andreasen FM. Root resorption following traumatic dental injuries. *Proceedings of the Finnish Dental Society. Suomen Hammaslaakariseuran toimituksia* 1992;88:95-114.
 37. Andreasen JO. Luxation of permanent teeth due to trauma. A clinical and radiographic follow-up study of 189 injured teeth. *Scandinavian Journal of Dental Research* 1970;78:273-86.
 38. Ahlberg K, Bystedt H, Eliasson S, Odenrick L. Long-term evaluation of autotransplanted maxillary canines with completed root formation. *Acta Odontol Scand* 1983;41:23-31.
 39. Gunraj MN. Dental root resorption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;88:647-53.
 40. Wedenberg C. Evidence for a dentin-derived inhibitor of macrophage spreading. *Scand J Dent Res* 1987;95:381-88.

41. Tronstad L. Root resorption-etiology, terminology and clinical manifestations. *Endod Dent Traumatol* 1988;4:241-52.
42. Vlaskalic V, Boyd RL, Baumrind S. Etiology and sequelae of root resorption. *Semin Orthod* 1998;4:124-31.
43. Uribe R, G.A. Ortodoncia Teoría y Clínica. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín, Colombia: 2004 .p. 190-9.
44. Gault P. Idiopathic ankylosis-resorption: Diagnosis and treatment. *International Orthodontics* 2013;11:262-77.
45. Canut JA, Sampietro. Movimiento ortodóncico: reacción tisular ante las fuerzas. En: Canut JA. Ortodoncia clínica y terapéutica. 2ªedición. Barcelona: Masson; 2000. p. 271-3.
46. Llena-Puy MC, Amengual-Lorenzo J, Forner-Navarro L. Idiopathic external root resorption associated to hypercalciuria. *Medicina Oral* 2002;7:192-9.
47. Brezniak N, Wasserstein A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 2. Literature review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993;103:138-46.
48. Andreasen JO. External root resorption: its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics. *Int Endod J* 1985;18:109-18.
49. Jäger A, Kunert D, Friesen T, Zhang D, Lossdörfer S, Götz W. Cellular and extracellular factors in early root resorption repair in the rat. *Eur J Orthod* 2008;30:336-45.
50. Vieira-Andrade RG, Drumond CL, Alves LP, Marques LS, Ramos-Jorge ML. Inflammatory root resorption in primary molars: prevalence and associated factors. *Braz Oral Res* 2012;26:335-40.
51. Hammarstrom L, Lindskog S. General morphological aspects of resorption of teeth and alveolar bone. *Int Endod J* 1985;18:93-108.
52. García Ballesta C, Iglesias Linares A. Lesiones del ligamento periodontal. En: Mendoza Mendoza A, García Ballesta C. Traumatología oral. Diagnóstico y tratamiento integral, soluciones estéticas. 1ª ed. Madrid: Ergon; 2012. p. 207-28.
53. Kennedy DB. Treatment strategies for ankylosed primary molars. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009;10:201-10.
54. Trope M. Root resorption of dental and traumatic origin: Classification based on etiology. *Practical periodontics and aesthetic dentistry: PPAD* 1998;10:515-22.
55. Andreasen JO. Textbook and color atlas of traumatic dental injuries to the teeth. 3ª ed. Chicago: Mosby; 1994. p. 13-133.
56. Trope M. Luxation injuries and external root resorption-etiology, treatment, and prognosis. *J Calif Dent Assoc* 2000;28:860-6.
57. Kurol J. Impacted and ankylosed teeth: why, when, and how to intervene. *Am.J.Orthod.Dentofacial Orthop* 2006;129:86-90.
58. Malmgren O, Goldson L, Hill C, Orwin A, Petrini L, Lundberg M. Root resorption after orthodontic treatment of traumatized teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1982;82:487-91.
59. Janson G, De Luca Canto G, Rodrigues Martins D, Castanha Henriquesand JF, De Freitas MR. A radiographic comparison of apical root resorption after orthodontic treatment with 3 different fixed appliance techniques. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2000;118:262-73.
60. Heithersay GS. Clinical, radiologic and histopathologic features of invasive cervical resorption. *Quintessence Int* 1999;30:27-37.
61. Heithersay GS. Invasive cervical resorption: An analysis of potential predisposing factors. *Quintessence Int* 1999;30:83-95.

62. Heithersay GS. Invasive cervical resorption following trauma. *Australian Endodontic Journal* 1999;25:79-85.
63. Heithersay GS. Treatment of invasive cervical resorption: an analysis of results using topical application of trichloroacetic acid, curettage and restoration. *Quintessence Int* 1999;30:96-110.
64. Patel S, Kanagasingam S, Pitt Ford T. External cervical resorption: A review. *J Endod* 2009;35:616-25.
65. Bergmans L, Van Cleynenbreugel J, Verbeken E, Wevers M, Van Meerbeek B, Lambrechts P. Cervical external root resorption in vital teeth. *J Clin Periodontol* 2002;29:580-5.
66. García Ballesta C, Iglesias Linares A. Lesiones del ligamento periodontal. En: Mendoza Mendoza A. *Traumatología oral en odontopediatría*. 2ª ed. Madrid: Ergon; 2012. p. 1-22.
67. Weltman B, Vig KWL, Fields HW, Shanker S, Kaizar EE. Root resorption associated with orthodontic tooth movement: A systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;137:462-76.
68. Nanekrungsan K, Patanaporn V, Janhom A, Korwanich N. External apical root resorption in maxillary incisors in orthodontic patients: Associated factors and radiographic evaluation. *Imaging Science in Dentistry* 2012;42:147-54.
69. Marques LS, Ramos-Jorge ML, Rey AC, Armond MC, Ruellas AC. Severe root resorption in orthodontic patients treated with the edgewise method: Prevalence and predictive factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;137:384-8.
70. Kocadereli I, Yesil TN, Veske PS, Uysal S. Apical root resorption: A prospective radiographic study of maxillary incisors. *European Journal of Dentistry* 2011;5:318-23.
71. Jung Y, Cho B. External root resorption after orthodontic treatment: A study of contributing factors. *Imaging Science in Dentistry* 2011;41:17-21.
72. Liou EJ, Chang PM. Apical root resorption in orthodontic patients with en-masse maxillary anterior retraction and intrusion with miniscrews. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;137:207-12.
73. Pandis N, Nasika M, Polychronopoulou A, Eliades T. External apical root resorption in patients treated with conventional and self-ligating brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134:646-51.
74. Levander E, Malmgren O, Stenback K. Apical root resorption during orthodontic treatment of patients with multiple aplasia: study of maxillary incisors. *Eur J Orthod* 1998;20:427-34.
75. Sameshima GT, Sinclair PM. Predicting and preventing root resorption: Part I. Diagnostic factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001;119:505-10.
76. Palma JC, alarcón Ja, Martín C, López C. Evaluación a largo plazo de la reabsorción radicular en incisivos superiores tras el tratamiento de ortodoncia. *Ortod Esp* 2000;40:39-45.
77. Lupi JE, Handelman CS, Sadowsky C. Prevalence and severity of apical root resorption and alveolar bone loss in orthodontically treated adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;109:28-37.
78. Mirabella AD, Artun J. Risk factors for apical root resorption of maxillary anterior teeth in adult orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995;108:48-55.
79. Harris EF, Robinson QC, Woods MA. An analysis of causes of apical root resorption in patients not treated orthodontically. *Quintessence Int* 1993;24:417-28.

80. Stenvik A, Mjör IA. Pulp and dentine reactions to experimental tooth intrusion. A histologic study of the initial changes. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1970;57:370-85.
81. Hemley S. The incidence of root resorption of vital permanent teeth. *J Dent Res* 1941;20:133-41.
82. Rudolph CE. An evaluation of root resorption during orthodontic treatment. *J Dent Res* 1940;19:367-71.
83. FotoImágenes.org [homepage en Internet]. Madrid: Jupiter Networks S.L.; c2012 [actualizada 7 Octubre 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.fotosimagenes.org/esmalte-dental>
84. Foster BL, Somerman MJ. Cementum. In: McCauley LK, Somerman MJ, editors. *Mineralized tissues in oral and craniofacial science: Biological principles and clinical correlates*. USA: Wiley-Blackwell; 2012. p. 169-81.
85. Denton GB. The discovery of cementum. *J Dent Res* 1939;18:239-42.
86. MacNeil RL, D'Errico JA, Ouyang H, Berry J, Strayhorn C, Somerman MJ. Isolation of murine cementoblasts: unique cells or uniquely-positioned osteoblasts? *Eur J Oral Sci* 1998;106:350-6.
87. Saygin NE, Giannobile WV, Somerman MJ. Molecular and cell biology of cementum. *Periodontol 2000* 2000;24:73-98.
88. Bosshardt DD. Are cementoblasts a Subpopulation of Osteoblasts or a Unique Phenotype? *J Dent Res* 2005;84:390-406.
89. Carlosboveda.com [homepage en Internet]. Miami: Dr. Carlos Boveda; c1998 [actualizada 7 Agosto 2012; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_22.htm
90. Fong CD, Slaby I, Hammarstrom L. Amelin: an enamel-related protein, transcribed in the cells of epithelial root sheath. *J Bone Miner Res* 1996;11:892-8.
91. Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontol 2000* 2006;40:11-28.
92. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. *Histología y embriología bucodental*. Madrid: Editorial Media Panamericana; 2003. p. 237-69.
93. Ten Cate AR. *Histología oral. Desarrollo, estructura y función*. 2ª ed. Buenos Aires: Ed Panamericana ; 1986. p. 137-42.
94. García C, Pérez L, Cortés O. Alteraciones radiculares en las lesiones traumáticas del ligamento periodontal: revisión sistemática. *RCO* 2003;8:197-208.
95. Bosshardt DD, Lang NP. The junctional epithelium: from health to disease. *J Dent Res* 2005;84:9-20.
96. Uninet.edu [homepage en Internet]. Burgos: Universidad de Burgos-FBIS. Unidad de Investigación. Hospital Universitario de Burgos; c1999 [actualizada 25 Mayo 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://conganat.uninet.edu/6CVHAP/autores/trabajos/T059/>
97. Gao Y-, Liu M-, Sun Z-, Zhang K, Dong F-, Sun H, et al. Characterization of nanostructures in acellular cementum of human tooth roots. *Chemical Research in Chinese Universities* 2012;28:916-20.
98. Schroeder HE. *Handbook of microscopic anatomy*. Vol.5. Berlin: The periodontium; 1986. p. 23-119.
99. Giuliana G, Trisi P, D'Arpa M, Scarano A. Cementum growth in impacted teeth, *Acta Stomatol Belg* 1995;92:7-11.

- 100.Llamas Cadaval R. Embriología e histología dental. En: Mendoza Mendoza A, García Ballesta C. Traumatología oral en Odontopediatría. Diagnóstico y tratamiento integral. Madrid: Ergon; 2003. p. 1-10.
- 101.Ten Cate AR. The development of the periodontium - A largely ectomesenchymally derived unit. *Periodontol 2000* 1997;14:9-19.
- 102.Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol 2000* 2000;24:9-27.
- 103.Mc Culloch CAG. Basic considerations in periodontal wound healing to achieve regeneration. *Periodontol 2000* 1993;1:16-25.
- 104.Amar S. Implications of cellular and molecular biology advances in periodontal regeneration. *Anat Rec* 1996;245:361-73.
- 105.Palmer RM, Lumsden AGS. Development of periodontal ligament and alveolar bone in homografted recombinations of enamel organs and papillary, pulpal and follicular mesenchyme in the mouse. *Arch Oral Biol* 1987;32:281-9.
- 106.Bosshardt DD, Selvig KA. Dental cementum: The dynamic tissue covering of the root. *Periodontol 2000* 1997;14:41-75.
- 107.Giniger MS, Norton L, Sousa S, Lorenzo JA, Bronner F. A human periodontal ligament fibroblast clone releases a bone resorption inhibition factor in vitro. *J Dent Res* 1991;70:99-101.
- 108.Owens PDA. Ultrastructure of Hertwig's epithelial root sheath during early root development in premolar teeth in dogs. *Arch Oral Biol* 1978;23:91-104.
- 109.Thomas HF. Root formation. *Int J Dev Biol* 1995;39:231-7.
- 110.Ten Cate AR. The role of epithelium in the development structure and function of the tissues of tooth support. *Oral Dis* 1996;2:55-62.
- 111.Bosshardt DD, Nanci A. Hertwig's epithelial root sheath enamel matrix proteins and initiation of cementogenesis in porcine teeth. *J Clin Periodontol* 2004;31:184-92.
- 112.Barkana I, Narayanan As, Grosskop A, Savion N, Pitaru S. Cementum attachment protein enriches putative cementoblastic populations of root surfaces in vitro. *J Dent Res* 2000;79:1482-8.
- 113.Zeichner-David M, Oishi K, Su Z, Zakartchenko V, Chen LS, Arzate H, Bringas P Jr. Role of Hertwig's epithelial root sheath cells in tooth root development. *Dev Dyn* 2003;228:651-63.
- 114.Bosshardt D, Schroeder HE. Evidence for rapid multipolar and slow unipolar production of human cellular and acellular cementum matrix with intrinsic fibers. *J Clin Periodontol* 1990;17:663-8.
- 115.Solheim T. Scand Dental cementum apposition as an indicator of age. *J Dent Res* 1990;69:510-9.
- 116.Kvaal S, Solheim T. A non-destructive dental method for age estimation. *J Forensic Odontostomatol* 1994;12:6-11.
- 117.Yamamoto T, Domon T, Takahashi S, Wakita M. Formation of an alternate lamellar pattern in the advanced cellular cementogenesis in human teeth. *Anat Embryol* 1997;196:115-21.
- 118.Kvaal SI, Solheim T. Incremental lines in human dental cementum in relation to age. *Eur J Oral Sci* 1995;103:225-30.
- 119.Waldrop TC, Hallmon WW, Mealey BL. Observations of root surfaces from patients with early-onset periodontitis and leukocyte adhesion deficiency. *J Clin Periodontol* 1995;22:168-78.

120. Nitzan DW, Michaeli Y, Weinreb M, Azaz B. The effect of aging on tooth morphology: a study on impacted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61:54-60.
121. Zeichner-David M. Regeneration of periodontal tissues: cementogenesis revisited. *Periodontol 2000* 2006;41:196-217.
122. Rygh P. Orthodontic root resorption studied by electron microscopy. *Angle Orthod* 1977;47:1-16.
123. Abass SK, Hartsfield Jr. JK. Orthodontics and external apical root resorption. *Semin Orthod* 2007;13:246-56.
124. Nichols Jr G. Bone resorption and calcium homeostasis: One process or two? *Calcif Tissue Res* 1970;4:61-3.
125. Laroche M. Intraosseous circulation from physiology to disease. *Joint Bone Spine* 2002;69:262-9.
126. Reitan K. Initial tissue behavior during apical root resorption. *Angle Orthod* 1974;44:68-82.
127. Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M.J. The dentin substrate: structure and properties related to bonding *J Dent* 1997;25:441-58.
128. Abramovich. *Histología y embriología*. Buenos aires: Ed Panamericana; 1999. p. 42-75.
129. Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate a review. *Scanning Microsc* 1989;3:161-74.
130. Ten Cate AR. *Oral histology-development, structure and function*. St. Louis, MO: Mosby; 1994. p. 173.
131. Kinney JH, Nalla RK, Pople JA, Breunig TM, Ritchie RO. Age-related transparent root dentin: Mineral concentration, crystallite size, and mechanical properties. *Biomaterials* 2005;26:3363-76.
132. Lindhe J, Karring T, Araújo M. The anatomy of periodontal tissues. Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 5ª ed. Oxford: Blackwell; 2008. p. 27-31.
133. Marshall GW Jr. *Dentin: microstructure and characterization*. Quintessence Int 1993;24:606-17.
134. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. *Histología y embriología bucodental*. Madrid: Editorial Media Panamericana; 2003. p. 240. Tomada de <http://embriologiainfo.blogspot.com.es/2012/04/complejo-dentino-pulpar-ii.html>
135. Habelitz S, Rodriguez BJ, Marshall SJ, Marshall GW, Kalinin SV, Gruverman A. Peritubular dentin lacks piezoelectricity. *J Dent Res* 2007;86:908-11.
136. Enom.com [homepage en Internet]. Medan: Eben Ginting; c2010 [actualizada 17 Noviembre 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://4.bp.blogspot.com/2K2CqzprU30/T3jaZ43ZN6I/AAAAAAAAAAEs/DpFm3sm3w8M/s1600/C11-fig13.jpg>
137. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, composition and mineralization. *Front Biosci Elite* 2011;3:711-35.
138. FotoImágenes.org [homepage en Internet]. Madrid: Jupiter Networks S.L.; c2012 [actualizada 7 Octubre 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.fotosimágenes.org/dentina>
139. Minch L. Material properties of periodontal ligaments. *Postepy Hig Med Dosw* 2013;67:1261-4.
140. Brero A, Iglesias JM. Endodoncia y eutrofia del espacio indiferenciado de Black. *An Esp Odontoestomatol* 1970;29:21-7.

141. McCulloch CAG, Lekic P, McKee MD. Role of physical forces in regulating the form and function of the periodontal ligament. *Periodontol 2000* 2000;24:56-72.
142. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. *Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental*. 3ª ed. Madrid: Editorial Media Panamericana; 2009. p. 374-7.
143. Sodek J. A new approach to assessing collagen turnover by using a microassay. A highly efficient and rapid turnover of collagen in rat periodontal tissues. *Biochem J* 1976;160:243-6.
144. Monografias.com [homepage en Internet]. Montevideo: Monografías com SA; c1998 [actualizada 11 Octubre 2011; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos55/ligamento-periodontal/ligamento-periodontal2.shtml>
145. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000* 2006;40:29-49.
146. Hakkinen L, Oksala O, Salo T, Rahemtulla F, Larjava H. Immunohistochemical localizayion of proteoglycans in human periodontium. *J Histochem Cytochem* 1993;41:1689-99.
147. Zhang X, Schuppan D, Becker J, Reichart P, Gelderblom HR. Distribution of undulin, tenascin, and fibronectin in the human periodontal ligament and cementum: comparative immunoelectron microscopy with ultra-thin cryosections. *J Histochem Cytochem* 1993;41:245-51.
148. Groeneveld MC, Van Den Bos T, Everts V, Beertsen W. Cell-bound and extracellular matrix-associated alkaline phosphatase activity in rat periodontal ligament. *J Periodontal Res* 1996;31:73-9.
149. Melcher A.H. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976;47:256-60.
150. Melcher AH, Turnbull RS. Inhibition of osteogenesis by periodontal ligament. *J Periodontol Res* 1972;10:16-7.
151. Melcher AH. Repair of wounds in the periodontium of the rat. Influence of the periodontal ligament in osteogenesis. *Arch Oral Biology* 1970;15:256-60.
152. Mc Culloch CAG, Nemeth E, Lowemberg B, MelcherAH. Paravascular cells in endosteal spaces of alveolar bone contribute to periodontal ligament cell population. *Anat Rec* 1987;219:233-42.
153. Ohno S, Doi T, Fujimoto K, Ijuin C, Tanaka N, Tanimoto K, et al. RGD-CAP (β ig-h3) exerts a negative regulatory function on mineralization in the human periodontal ligament. *J Dent Res* 2002;81:822-5.
154. Yoshizawa T, Takizawa F, Iizawa F, Ishibashi O, Kawashima H, Matsuda A, et al. Homeobox protein Msx2 acts as a molecular defense mechanism for preventing ossification in ligament fibroblasts. *Mol Cell Biol* 2004;24:3460-72.
155. ZZ.org [homepage en Internet]. Londres: DNS ADMIN; c2001 [actualizada 24 Octubre 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://fisiologia2b.zzl.org/musculoesqueletico.html>
156. Wheater PR, Burkitt HG, Daniels VG. *Functional Histology*. New York: Churchill Livingstone; 1987. p. 142-60.
157. Moreno Fernández A. Embriología e histología dental. En: Mendoza Mendoza A, García Ballesta C. *Traumatología oral. Diagnóstico y tratamiento integral, soluciones estéticas*. 1ª ed. Madrid: Ergon; 2012. p. 1-18.
158. Jilka RL. Cytokines, bone remodeling and estrogen deficiency: A 1998 update. *Bone* 1998;23:75-81.
159. Lanyon L. Osteocytes, strain detection, bone remodeling and remodeling. *Calcif Tissue Int* 1995;53:102-7.

160. Mundy GR. Inflammatory mediators and the destruction of bone. *J Periodont Res* 1991;26:213-7.
161. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang M, Lüthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-19.
162. Rankligand.ca [homepage en Internet]. Mississauga: Markmonitor International Canada Ltd; c2009 [actualizada 21 Marzo 2014; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.rankligand.ca/resorbing-osteoclasts.html>
163. Raisz LG. Osteoporosis. *J Am Geriatr Soc* 1982;30:27-138.
164. Roodman GD, Kurihara N, Ohsaki Y, Kukita A, Hosking D, Demulder A, et al. Interleukin 6 - A potential autocrine/paracrine factor in Paget's disease of bone. *J Clin Invest* 1992;89:46-52.
165. Raisz LG. Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Eng J Med* 1988;318:818-28.
166. Eastel R, Blumsonh A. The value of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *J Rheumatol* 1997;24:1215-7.
167. Hurley MM, Lee SK, Raisz LG, et al. Basic Fibroblast Growth Factor induces osteoclast formation in murine bone marrow cultures. *Bone* 1998;22:309-16.
168. Masi L, Brandi ML. Physiopathological basis of bone turnover. *Q J Nucl Med* 2001;45:2-6.
169. Civitelli R, Beyer EC, Warlow PM, Robertson AJ, Geist ST, Steinberg TH. Connexin 43 mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cells networks. *J Clin Invest* 1993;91:1888-96.
170. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:47-51.
171. Webcindario.com [homepage en Internet]. Pontevedra: Miarroba Networks, S.L.; c2001 [actualizada 26 Febrero 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://lalupa3.webcindario.com/biologia/sistema%20oseo.htm>
172. Ham AW. Some histophysiological problems peculiar to calcified tissue. *J Bone Joint Surg Am* 1952;34:701-28.
173. Mundy GR. Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling. *Journal of Bone and Mineral Research* 1993;8:505-10.
174. Flickr.com [homepage en Internet]. Sunnyvale: yahoo! Inc; c2005 [actualizada 5 Enero 2014; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.flickr.com/photos/isaiasmalta/3436630916/>
175. Lacey DL, T Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclasts differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.
176. Burgess TL, Quian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999;145:527-38.
177. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001;16:348-60.
178. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;423:337-42.
179. Boneacademy.com [homepage en Internet]. Thousand Oaks: Amgen Domains; c2006 [actualizada 16 Febrero 2014; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://www.flickr.com/photos/isaiasmalta/3436630916/>

180. Abass SK, Hartsfield Jr. JK. Investigation of genetic factors affecting complex traits using external apical root resorption as a model. *Semin Orthod* 2008;14:115-24.
181. Hartsfield Jr. JK, Everett ET, Al-Qawasmi RA. Genetic factors in external apical root resorption and orthodontic treatment. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:115-22.
182. Lund H, Gröndahl K, Hansen K, Gröndahl HG. Apical root resorption during orthodontic treatment. *Angle Orthod* 2012;82:480-7.
183. Melsen B. Tissue reaction to orthodontic tooth movement - A new paradigm. *Eur J Orthod* 2001;23:671-81.
184. Harry MR, Sims MR. Root resorption in bicuspid intrusion. A scanning electron microscope study. *Angle Orthod* 1982;52:235-58.
185. McLaughlin KD. Quantitative determination of root resorption during orthodontic treatment [abstract]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1964;50:143.
186. Owman-Moll P, Kurol J, Lundgren D. Repair of orthodontically induced root resorption in adolescents. *Angle Orthod* 1995;65:403-08.
187. Taithongchai R, Sookkorn K, Killiany DM. Facial and dentoalveolar structure and the prediction of apical root shortening. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110:296-302.
188. Levander E, Malmgren O. Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: A study of upper incisors. *Eur Orthod* 1988;10:30-8.
189. McNab S, Battistutta D, Taverne A, Symons AL. External apical root resorption of posterior teeth in asthmatics after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;116:545-51.
190. Linge L, Linge BO. Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;99:35-43.
191. Brin I, Tulloch JFC, Koroluk L, Philips C. External apical root resorption in Class II malocclusion: A retrospective review of 1- versus 2-phase treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124:151-6.
192. Goldson L, Henrikson CO. Root resorption during begg treatment: A longitudinal roentgenologic study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1975;68:55-66.
193. Kennedy D, Joondeph D, Osterberg S, Little R. The effect of extraction and orthodontic treatment on dentoalveolar support. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1983;84:183-90.
194. Kaley J, Phillips C. Factors related to root resorption in edgewise practice. *Angle Orthod* 1991;61:125-32.
195. Kook YA, Park S, Sameshima GT. Peg-shaped and small lateral incisors not at higher risk for root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;123:253-8.
196. Al-Qawasmi RA, Hartsfield Jr. JK, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM, et al. Genetic predisposition to external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;123:242-52.
197. Otis LL, Hong JS-, Tuncay OC. Bone structure effect on root resorption. *Orthodontics and Craniofacial Research* 2004;7:165-77.
198. Segal GR, Schiffman P, Tuncay O. Meta analysis of the treatment related factors of external apical root resorption. *Orthod and Craniofac Res* 2004;7:71-8.
199. DeShields RW. A study of root resorption in treated class II, division I malocclusions. *Angle Orthod* 1969;39:231-45.
200. Baumrind S, Korn EL, Boyd RL. Apical root resorption in orthodontically treated adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110:311-20.

201. Casa MA, Faltin RM, Faltin K, Sander F, Arana-Chavez VE. Root resorptions in upper first premolars after application of continuous torque moment: Intra-individual study. *Journal of Orofacial Orthopedics* 2001;62:285-95.
202. Jimenez-Pellegrin C, Arana-Chavez VE. Root resorption in human mandibular first premolars after rotation as detected by scanning electron microscopy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004;126:178-84.
203. Fox N. Longer orthodontic treatment may result in greater external apical root resorption. *Evid Based Dent* 2005;6:21.
204. McFadden WM, Engstrom C, Engstrom H, Anholm JM. A study of the relationship between incisor intrusion and root shortening. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1989;96:390-6.
205. Sameshima GT, Sinclair PM. Characteristics of patients with severe root resorption. *Orthod Craniofac Res* 2004;7:108-14.
206. Beck BW, Harris EF. Apical root resorption in orthodontically treated subjects: Analysis of edgewise and light wire mechanics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994;105:350-61.
207. Dermaut LR, De Munck A. Apical root resorption of upper incisors caused by intrusive tooth movement: A radiographic study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1986;90:321-6.
208. Harris DA, Jones AS, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: part 8. Volumetric analysis of root resorption craters after application of controlled intrusive light and heavy orthodontic forces: a microcomputed tomography scan study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130:639-47.
209. Barbagallo LJ, Jones AS, Petocz P, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 10. comparison of the effects of invisible removable thermoplastic appliances with light and heavy orthodontic forces on premolar cementum. A microcomputed-tomography study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;133:218-27.
210. Faltin RM, Faltin K, Sander FG, Arana-Chavez VE. Ultrastructure of cementum and periodontal ligament after continuous intrusion in humans: A transmission electron microscopy study. *Eur J Orthod* 2001;23:35-49.
211. Chan EKM, Darendeliler MA. Exploring the third dimension in root resorption. *Orthod Craniofac Res* 2004;7:64-70.
212. Chan E, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 5. Volumetric analysis of root resorption craters after application of light and heavy orthodontic forces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;127:186-95.
213. Chan E, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 7. Extent of root resorption under areas of compression and tension. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129:504-10.
214. Brezniak N, Wasserstein A. Root resorption after orthodontic treatment: Part 1. Literature review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993;103:62-6.
215. Parker RJ, Harris EF. Directions of orthodontic tooth movements associated with external apical root resorption of the maxillary central incisor. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114:672-83.
216. Han G, Huang S, Von den Hoff JW, Zeng X, Kuijpers-Jagtman AM. Root resorption after orthodontic intrusion and extrusion: An intraindividual study. *Angle Orthod* 2005;75:912-8.
217. Costopoulos G, Nanda R. An evaluation of root resorption incident to orthodontic intrusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;109:543-8.

218. Sharpe W, Reed B, Subtelny JD, Polson A. Orthodontic relapse, apical root resorption, and crestal alveolar bone levels. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;91:252-8.
219. Linge BO, Linge L. Apical root resorption in upper anterior teeth. *Eur J Orthod* 1983;5:173-83.
220. Acar A, Canyurek U, Kocaaga M, Erverdi N. Continuous vs. discontinuous force application and root resorption. *Angle Orthod* 1999;69:159-63.
221. Konoo T, Kim YJ, Gu GM, King GJ. Intermittent force in orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2001;80:457-60.
222. Weiland F. Constant versus dissipating forces in orthodontics: The effect on initial tooth movement and root resorption. *Eur J Orthod* 2003;25:335-42.
223. Owman-Moll P, Kurol J, Lundgren D. Continuous versus interrupted continuous orthodontic force related to early tooth movement and root resorption. *Angle Orthod* 1995;65:395-401.
224. Ketcham AH. A preliminary report of an investigation of apical root resorption of vital permanent teeth. *Int J Orthod* 1927;13:97-127.
225. Blake M, Woodside DG, Pharoah MJ. A radiographic comparison of apical root resorption after orthodontic treatment with the edgewise and Speed appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995;108:76-84.
226. Malmgren O, Goldson L, Hill C, Orwin A, Petrini L, Lundberg M. Root resorption after orthodontic treatment of traumatized teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1982;82:487-91.
227. TenHoeve A, Mulie RM. The effects of antero-postero incisor repositioning on the palatal cortex as studied with laminagraphy. *J Clin Orthod* 1976;10:804-22.
228. McNab S, Battistutta D, Taverne A, Symons AL. External apical root resorption following orthodontic treatment. *Angle Orthod* 2000;70:227-32.
229. Lew K. Intrusion and apical resorption of mandibular incisors in Begg treatment: anchorage bend or curve? *Aust Orthod J* 1990;11:164-8.
230. Alexander SA. Levels of root resorption associated with continuous arch and sectional arch mechanics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110:321-4.
231. Scott P, DiBiase AT, Sherriff M, Cobourne MT. Alignment efficiency of Damon3 self-ligating and conventional orthodontic bracket systems: a randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134:470-8.
232. Donaldson M, Kinirons MJ. Factors affecting the time of onset of resorption in avulsed and replanted incisor teeth in children. *Dent Traumatol* 2001;17:205-9.
233. Horiuchi A, Hotokezaka H, Kobayashi K. Correlation between cortical plate proximity and apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114:311-8.
234. Hamilton RS, Gutmann JL. Endodontic-orthodontic relationships: A review of integrated treatment planning challenges. *Int Endod J* 1999;32:343-60.
235. Drysdale C, Gibbs SL, Ford TR. Orthodontic management of root-filled teeth. *Br J Orthod* 1996;23:255-60.
236. Kjaer I. Morphological characteristics of dentitions developing excessive root resorption during orthodontic treatment. *Eur J Orthod* 1995;17:25-34.
237. Smale I, Artun J, Behbehani F, Doppel D, van't Hof M, Kuijpers-Jagtman AM. Apical root resorption 6 months after initiation of fixed orthodontic appliance therapy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;128:57-67.
238. Thongudomporn U, Freer TJ. Anomalous dental morphology and root resorption during orthodontic treatment: A pilot study. *Aust Orthod J* 1998;15:162-7.

239. Lee RY, Artun J, Alonzo TA. Are dental anomalies risk factors for apical root resorption in orthodontic patients? *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;116:187-95.
240. English H. External apical root resorption as a consequence of orthodontic treatment. *J N Z Soc Periodontol* 2001;86:17-23.
241. Iglesias-Linares A, Yañez-Vico R, Ballesta-Mударра S, Ortiz-Ariza E, Ortega-Rivera H, Mendoza-Mendoza A, et al. Postorthodontic external root resorption is associated with IL1 receptor antagonist gene variations. *Oral Dis* 2012;18:198-205.
242. Pereira S, Lavado N, Nogueira L, Lopez M, Abreu J, Silva H. Polymorphisms of genes encoding P2X7R, IL-1B, OPG and RANK in orthodontic-induced apical root resorption. *Oral Dis* 2014;20:659-67.
243. Bastos Lages EM, Drummond AF, Pretti H, Costa FO, Lages EJ, Gontijo AI, et al. Association of functional gene polymorphism IL-1beta in patients with external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;136:542-546.
244. Gulden N, Eggermann T, Zerres K, Beer M, Meinelt A, Diedrich P. Interleukin-1 polymorphisms in relation to external apical root resorption (EARR). *J Orofac Orthop* 2009;70:20-38.
245. Iglesias-Linares A, Yañez-Vico RM, Ballesta-Mударра S, Ortiz-Ariza E, Mendoza-Mendoza A, Perea-Pérez E, et al. Interleukin 1 receptor antagonist (IL1RN) genetic variations condition post-orthodontic external root resorption in endodontically-treated teeth. *Histol Histopathol* 2013;28:767-73.
246. Linhartova P, Cernochova P, Holla LI. IL1 gene polymorphisms in relation to external apical root resorption concurrent with orthodontia. *Oral Dis* 2013;19:262-70.
247. Ngan DCS, Kharbanda OP, Byloff FK, Darendeliler MA. The genetic contribution to orthodontic root resorption: A retrospective twin study. *Aust Orthod J* 2004;20:1-9.
248. Al-Qawasmi RA, Hartsfield Jr. JK, Everett ET, Flury L, Liu L, Foroud TM, et al. Genetic predisposition to external apical root resorption in orthodontic patients: linkage of chromosome-18 marker. *J Dent Res* 2003;82:356-60.
249. Igarashi K, Adachi H, Mitani H, Shinoda H. Inhibitory effect of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. *J Dent Res* 1996;75:1644-9.
250. Adachi H, Igarashi K, Mitani H, Shinoda H. Effects of topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on orthodontic tooth movement in rats. *J Dent Res* 1994;73:1478-86.
251. Alatli I, Hammarström L. Root surface defects in rat molar induced by 1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate. *Acta Odontol Scand* 1996;54:59-65.
252. Alatli I, Hellsing E, Hammarström L. Orthodontically induced root resorption in rat molars after 1-hydroxyethylidene-1,1-bisphosphonate injection. *Acta Odontol Scand* 1996;54:102-8.
253. Villa PA, Oberti G, Moncada CA, Vasseur O, Jaramillo A, Tobon D, et al. Pulp-dentine complex changes and root resorption during intrusive orthodontic tooth movement in patients prescribed nabumetone. *J Endod* 2005;31:61-6.
254. Poumpros E, Loberg E, Engstrom C. Thyroid function and root resorption. *Angle Orthod* 1994;64:389-93.
255. Shirazi M, Dehpour AR, Jafari F. The effect of thyroid hormone on orthodontic tooth movement in rats. *J Clin Pediatr Dent* 1999;23:259-64.
256. Loberg EL, Engstrom C. Thyroid administration to reduce root resorption. *Angle Orthod* 1994;64:395-9.

257. Christiansen RL. Commentary: Thyroxine administration and its effects on root resorption. *Angle Orthod* 1994;64:399-400.
258. Rygh P, Reitan K. Ultrastructural changes in the periodontal ligament incident to orthodontic tooth movement. *Transactions. European Orthodontic Society* 1972;393-405.
259. Goldie RS, King GJ. Root resorption and tooth movement in orthodontically treated, calcium-deficient, and lactating rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1984;85:424-30.
260. Midgett RJ, Shaye R, Fruge JF Jr. The effect of altered bone metabolism on orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1981;80:256-62.
261. Davidovitch Z, Godwin SL, Park YG, Dobeck JM, Lily CM, De Sanctis GT. The etiology of root resorption. In: McNamara JA, Trotman CA, editors. *Orthodontic treatment: The management of unfavorable sequelae*. University of Michigan Press: Ann Arbor; 1996. p. 93-117.
262. Mandall N, Lowe C, Worthington H, Sandler J, Derwent S, Abdi- Oskouei M, et al. Which orthodontic archwire sequence? A randomized clinical trial. *Eur J Orthod* 2006;28:561-6.
263. Harris EF, Butler ML. Patterns of incisor root resorption before and after orthodontic correction in cases with anterior open bites. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1992;101:112-9.
264. Wickwire NA, McNeil MH, Norton LA, Duell RC. The effects of tooth movement upon endodontically treated teeth. *Angle Orthod* 1974;44:235-42.
265. Remington DN, Joondeph DR, Artun J, Riedel RA, Chapko MK. Long-term evaluation of root resorption occurring during orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1989;96:43-6.
266. Sameshima GT, Sinclair PM. Predicting and preventing root resorption: Part II. Treatment factors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001;119:511-5.
267. Taner T, Ciger S, Sencift Y. Evaluation of apical root resorption following extraction therapy in subjects with class I and class II malocclusions. *Eur J Orthod* 1999;21:491-6.
268. Mavragani M, Boe OE, Wisth PJ, Selvig KA. Changes in root length during orthodontic treatment: Advantages for immature teeth. *Eur J Orthod* 2002;24:91-7.
269. Reitan K. Initial tissue behaviour during apical root resorption. *Angle Orthod* 1974;44:68-82.
270. Harris EF, Baker WC. Loss of root length and crestal bone height before and during treatment in adolescent and adult orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;98:463-9.
271. Bishara SE, Vonwald L, Jakobsen JR. Changes in root length from early to mid-adulthood: Resorption or apposition? *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;115:563-8.
272. Spurrier SW, Hall SH, Joondeph DR, Shapiro PA, Riedel RA. A comparison of apical root resorption during orthodontic treatment in endodontically treated and vital teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;97:130-4.
273. Massler M, Perreault JG. Root resorption in the permanent teeth of young adults. *J Dent Child* 1954;21:158-64.
274. Harris EF, Boggan BW, Wheeler DA. Apical root resorption in patients treated with comprehensive orthodontics. *J Tenn Dent Assoc* 2001;81:30-3.
275. Pizzo G, Licata ME, Guiglia R, Giuliana G. Root resorption and orthodontic treatment. Review of the literature. *Minerva Stomatol* 2007;56:31-44.

276. Harris EF. Interpreting heritability estimates in the orthodontic literature. *Semin Orthod* 2008;14:125-34.
277. Massler M, Perreault J. Root resorption in permanent teeth of young adults. *J Clin Periodontol* 1954;9:497-503.
278. Newman WG. Possible etiologic factors in external root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1975;67:522-39.
279. Reitan K. Some factors determining the evaluation of forces in orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1957;43:32-45.
280. Becks H. Root resorptions and their relation to pathological bone formation. Part 1: Statistical data and roentgenographic aspects. *Int J Orthod Oral Surg* 1936;22:445-82.
281. Massler M, Perreault JG. Root resorption in the permanent teeth of young adults. *J Dent Child* 1954;21:158-64.
282. Martin N, Boomsma D, Machin G. A twin-pronged attack on complex traits. *Nat Genet* 1997;17:387-92.
283. Michalowicz BS, Aeppli DP, Kuba RK, Bereuter JE, Corny JP, Segal NL, et al. A twin study of genetic variation in proportional radiographic alveolar bone height. *J Dent Res* 1991;70:1431-5.
284. Becks H. Root resorptions and their relation to pathologic bone formation. *Int J Orthod* 1936;22:445-82.
285. Becks H, Cowden RC. Root resorptions and their relation to pathologic bone formation: Part II. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1942;28:513-26.
286. Mitchell CA, Kennedy JG, Wallace RG. Dental abnormalities associated with familial expansile osteolysis: a clinical and radiographic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;70:301-7.
287. Edwards DM, Roberts GJ. Short root anomaly. *Br Dent J* 1991;169:292-3.
288. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 β (IL-1 β) gene correlates with IL-1 β secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992;22:396-402.
289. Di Giovine FS, Cork MJ, Crane A, Mee JB, Duff GW. Novel genetic association of an IL-1B gene variation +3953 with IL-1B protein production and psoriasis [abstract]. *Cytokine* 1995;7:606.
290. Grieve WG, Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois LM. Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 β (IL-1 β) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994;105:369-74.
291. Wu FL, Wang LY, Huang YQ, Guo WB, Liu CD, Li SG. Interleukin-1 β +3954 polymorphisms and risk of external apical root resorption in orthodontic treatment: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2013;12:4678-86.
292. Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Inoue I, Maki K. External apical root resorption and the interleukin-1B gene polymorphism in the Japanese population. *Orthodontic Waves* 2009;68:152-7.
293. Sharab LY, Morford LA, Dempsey J, Falcão-Alencar G, Mason A, Jacobson E, et al. Genetic and treatment-related risk factors associated with external apical root resorption (EARR) concurrent with orthodontia. *Orthod Craniofac Res* 2015;18:71-82.
294. Ehrlich J, Sankoff D, Nadeau JH. Synteny conservation and chromosome rearrangements during mammalian evolution. *Genetics* 1997;147:289-96.
295. Nadeau JH, Dunn PJ. Genomic strategies for defining and dissecting developmental and physiological pathways. *Current Opinion in Genetics and Development* 1998;8:311-5.

296. Brudvik P, Rygh P. The initial phase of orthodontic root resorption incident to local compression of the periodontal ligament. *Eur J Orthod* 1993;15:249-63.
297. Al-Qawasmi RA, Hartsfield Jr. JK, Everett ET, et al. Root resorption associated with orthodontic force in IL-1 β knockout mouse. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004;4:383-5.
298. Al-Qawasmi RA, Hartsfield Jr. JK, Everett ET, Weaver MR, Foroud TM, Faust DM, et al. Root resorption associated with orthodontic force in inbred mice: Genetic contributions. *Eur J Orthod* 2006;28:13-9.
299. Abass S, Hartsfield Jr. JK, Al-Qawasmi R, Everett ET, Foroud T, Roberts WE. Inheritance of susceptibility to root resorption associated with orthodontic force in mice. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134:742-50.
300. Hartsfield Jr. JK. Pathways in external apical root resorption associated with orthodontia. *Orthod Craniofac Res* 2009;12:236-42.
301. Rossi M, Whitcomb S, Lindemann R. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α production by human monocytes cultured with l-thyroxine and thyrocalcitonin: Relation to severe root shortening. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110:399-404.
302. Hughes AE, Shearman AM, Weber JL, Barr RJ, Wallace RG, Osterberg PH, et al. Genetic linkage of familial expansile osteolysis to chromosome 18q. *Hum Mol Genet* 1994;3:359-61.
303. Hughes AE, Ralston SH, Marken J, Bell C, MacPherson H, Wallace RG, et al. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat Genet* 2000;24:45-8.
304. Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K, et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;253:395-400.
305. Beertsen W, Van den Bos T. Alkaline phosphatase induces the deposition of calcified layers in relation to dentin: an in vitro study to mimic the formation of afibrillar acellular cementum. *J Dent Res* 1991;70:176-81.
306. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr Rev* 1994;15:439-61.
307. Le J, Vilcek J. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987;56:234-48.
308. Lowney JJ, Norton LA, Shafer DM, Rossomando EF. Orthodontic forces increase tumor necrosis factor α in the human gingival sulcus. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995;108:519-24.
309. Dubyak GR, el Moatassim C. Signal transduction via P2-purinergic receptors for extracellular ATP and other nucleotides. *Am J Physiol* 1993;265:577-606.
310. Di Virgilio F, Chiozzi P, Ferrari D, et al. Nucleotide receptors: An emerging family of regulatory molecules in blood cells. *Blood* 2001;97:587-600.
311. North RA. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev* 2002;82:1013-67.
312. Ferrari D, Pizzirani C, Adinolfi E, Lemoli RM, Curti A, Idzko M, et al. The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. *J Immunol* 2006;176:3877-83.
313. Rassendren F, Buell GN, Virginio C, Collo G, North RA, Surprenant A. The permeabilizing ATP receptor, P2X7. Cloning and expression of a human cDNA. *J Biol Chem* 1997;272:5482-6.
314. Boue-Grabot E, Archambault V, Seguela P. A protein kinase C site highly conserved in P2X subunits controls the desensitization kinetics of P2X (2) ATPgated channels. *J Biol Chem* 2000;275:10190-5.

315. Lister MF, Sharkey J, Sawatzky DA, Hodgkiss JP, Davidson DJ, Rossi AG, et al. The role of the purinergic P2X7 receptor in inflammation. *J Inflamm* 2007;16:4-5.
316. Brough D, Le Feuvre RA, Wheeler RD, Solovyova N, Hilfiker S, Rothwell NJ, et al. Ca^{2+} stores and Ca^{2+} entry differentially contribute to the release of IL-1 beta and IL-1 alpha from murine macrophages. *J Immunol* 2003;170:3029-36.
317. Li J, Liu D, Ke HZ, Duncan RL, Turner CH. The P2X7 nucleotide receptor mediates skeletal mechanotransduction. *J Biol Chem* 2005;280:42952-9.
318. Gudipaty L, Munetz J, Verhoef PA, Dubyak GR. Essential role for Ca^{2+} in regulation of IL-1beta secretion by P2X7 nucleotide receptor in monocytes, macrophages, and HEK-293 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;285:286-99.
319. Qu Y, Franchi L, Nunez G, Dubyak GR. Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *J Immunol* 2007;179:1913-25.
320. Labasi JM, Petrushova N, Donovan C, McCurdy S, Lira P, Payette MM, et al. Absence of the P2X7 receptor alters leukocyte function and attenuates an inflammatory response. *J Immunol* 2002;168:6436-45.
321. Burnstock G. Historical review: ATP as a neurotransmitter. *Trends Pharmacol Sci* 2006;27:166-76.
322. Lazarowski ER, Boucher RC, Harden TK. Mechanisms of release of nucleotides and integration of their action as P2X- and P2Y-receptor activating molecules. *Mol Pharmacol* 2003;64:785-95.
323. Bodin P, Burnstock G. Purinergic signalling: ATP release. *Neurochem Res* 2001;26:959-69.
324. Zimmermann H. Extracellular metabolism of ATP and other nucleotides. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000;362:299-309.
325. Paiva-Novaes MS, Ferreira FD, Nicolau J. Adenine nucleotide contents and ATPases activities in porcine deciduous dental pulp during the root formation, in fully formed root and during root resorption phases. *J Biol Buccale* 1989;17:187-92.
326. Kahlenberg JM, Dubyak GR. Mechanisms of caspase-1 activation by P2X7 receptor-mediated K^{+} release. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004;286:1100-8.
327. Michel AD, Fonfria E. Agonist potency at P2X7 receptors is modulated by structurally diverse lipids. *Br J Pharmacol* 2007;152:523-37.
328. Takenouchi T, Sato M, Kitani H. Lysophosphatidylcholine potentiates Ca^{2+} influx, pore formation and p44/42 MAP kinase phosphorylation mediated by P2X7 receptor activation in mouse microglial cells. *J Neurochem* 2007;102:1518-32.
329. Cabrini G, Falzoni S, Forchap SL, Pellegatti P, Balboni A, Agostini P, et al. A His-155 to Tyr polymorphism confers gain-of-function to the human P2X7 receptor of human leukemic lymphocytes. *J Immunol* 2005;175:82-9.
330. Young MT, Pelegrin P, Surprenant A. Amino acid residues in the P2X7 receptor that mediate differential sensitivity to ATP and BzATP. *Mol Pharmacol* 2007;71:92-100.
331. Chakfe Y, Seguin R, Antel JP, Morissette C, Malo D, Henderson D, et al. ADP and AMP induce interleukin-1beta release from microglial cells through activation of ATP-primed P2X7 receptor channels. *J Neurosci* 2002;22:3061-9.
332. Barlow PG, Li Y, Wilkinson TS, Bowdish DM, Lau YE, Cosseau C, et al. The human cationic host defense peptide LL-37 mediates contrasting effects on apoptotic pathways in different primary cells of the innate immune system. *J Leukoc Biol* 2006;80:509-20.

333. Reitan KR. Principles and biomechanical reactions. In: Graber TM, Vanarsdall RL, editors. *Orthodontics: current principles and techniques*. St Louis: Mosby; 1994. p. 88-174.
334. Roberts WE, Huja S, Roberts JA. Bone modeling: biomechanics, molecular mechanisms and clinical perspectives. *Semin Orthod* 2004;10:123-61.
335. Roberts WE, Goodwin WC Jr, Heiner SR. Cellular response to orthodontic force. *Dent Clin North Am* 1981;25:3-17.
336. Rygh P. Hyalinization of the periodontal ligament incident to orthodontic tooth movement. *Nor Tannlaegeforen Tid* 1974;84:352-7.
337. Rygh P. Ultrastructural changes in tension zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1976;70:269-81.
338. Saito M, Saito S, Ngan PW, Shanfeld J, Davidovitch Z. Interleukin 1 beta and prostaglandin E are involved in the response of periodontal cells to mechanical stress in vivo and in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;99:226-40.
339. Gu BJ, Sluyter R, Skarratt KK, Shemon AN, Dao-Ung LP, Fuller SJ, et al. An Arg307 to Gln polymorphism within the ATP-binding site causes loss of function of the human P2X7 receptor. *J Biol Chem* 2004;279:31287-95.
340. Vicilli RF, Katona TR, Chen J, Hartsfield Jr. JK, Roberts WE. Orthodontic mechanotransduction and the role of the P2X7 receptor. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;135:1-16.
341. Iglesias-Linares A, Yañez-Vico RM, Ortiz-Ariza E, Ballesta S, Mendoza-Mendoza A, Perea E, et al. Postorthodontic external root resorption in root-filled teeth is influenced by interleukin-1 β polymorphism. *J Endod* 2012;38:283-7.
342. Morsani JM, Aminoshariae A, Han YW, Montagnese TA, Mickel A. Genetic predisposition to persistent apical periodontitis. *J Endod* 2011;37:455-9.
343. Silva AC, Faria MR, Fontes A, Campos MS, Cavalcanti BN. Interleukin-1 beta and interleukin-8 in healthy and inflamed dental pulps. *J Appl Oral Sci* 2009;17:527-32.
344. Girm HRS, Orsbi NM, Homer-Vanniasinkam S. An overview of cytokine interactions in atherosclerosis and implications for peripheral arterial disease. *Vasc Med* 2007;12:299-309.
345. D'Souza R, Brown JR, Newland JR, Levy BM, Lachman LB. Detection and characterization of interleukin-1 in human dental pulps. *Arch Oral Biol* 1989;34:307-13.
346. Hosoya S, Matsushima K. Stimulation of interleukin-1 β production of human dental pulp cells by porphyromonas endodontalis lipopolysaccharide. *J Endod* 1997;23:39-42.
347. O'Brien CA, Gubrij I, Lin SC, Saylor RL, Manolagas SC. STAT3 activation in stromal/osteoblastic cells is required for induction of the receptor activator of NF κ B ligand and stimulation of osteoclastogenesis by gp130-utilizing cytokines or interleukin-1 but not 1,25-dihydroxyvitamin D3 or parathyroid hormone. *J Biol Chem* 1999;274:19301-8.
348. Kudo O, Sabokbar A, Pocock A, Itonaga I, Fujikawa Y, Athanasou NA. Interleukin-6 and interleukin-11 support human osteoclast formation by a RANKL-independent mechanism. *Bone* 2003;32:1-7.
349. Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E, Udagawa N, Takami M, Kotake S, et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. *J Exp Med* 2000;191:275-286.

350. Azuma Y, Kaji K, Katogi R, Takeshita S, Kudo A: Tumor necrosis factor- α induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts. *J Biol Chem* 2000;275:4858-64.
351. Jimi E, Nakamura I, Duong LT, Ikebe T, Takahashi N, Rodan GA, et al. Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/stromal cells. *Exp Cell Res* 1999;247:84-93.
352. Sahara N, Ashizawa Y, Nakamura K, Deguchi T, Suzuki K. Ultrastructural features of odontoclasts that resorb enamel in human deciduous teeth prior to shedding. *Anat Rec* 1998;252:215-28.
353. Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Ashizawa Y, Deguchi T, Suzuki K. Odontoclastic resorption of the superficial nonmineralized layer of predentine in the shedding of human deciduous teeth. *Cell Tissue Res* 1994;277:19-26.
354. Tanaka T, Taniguchi Y, Gotoh K, Satoh R, Inazu M, Ozawa H. Morphological study of recombinant human transforming growth factor β 1 -induced intramembranous ossification in neonatal rat parietal bone. *Bone* 1993;14:117-23.
355. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998;188:997-1001.
356. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Goto M, et al. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. *Bone* 1999;25:109-13.
357. Takada K, Kajiya H, Fukushima H, Okamoto F, Motokawa W, Okabe K. Calcitonin in human odontoclasts regulates root resorption activity via protein kinase A. *J Bone Miner Metab* 2004;22:12-18.
358. Talic N, Evans CA, Daniel JC, George A, Zaki AM. Immunohistochemical localization of α v β 3 integrin receptor during experimental tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004;125:178-84.
359. Lossdörfer S, Götz W, Jäger A. Immunohistochemical localization of receptor activator of nuclear factor KappaB (RANK) and its ligand (RANKL) in human deciduous teeth. *Calcif Tissue Int* 2002;71:45-52.
360. Lossdörfer S, Götz W, Jäger A. Localization of IL-1 α , IL-1 RI, TNF, TNF-RI and TNF-RII during physiological drift of rat molar teeth--an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Cytokine* 2002;20:7-16.
361. Boyce BF, Xing L. The RANKL/RANK/OPG pathway. *Curr Osteoporos Rep* 2007;5:98-104.
362. Fukushima H, Kajiya H, Takada K, Okamoto F, Okabe K. Expression and role of RANKL in periodontal ligament cells during physiological root-resorption in human deciduous teeth. *Eur J Oral Sci* 2003;111:346-352.
363. Sasaki T. Differentiation and functions of osteoclasts and odontoclasts in mineralized tissue resorption. *Microsc Res Tech* 2003;61:483-95.
364. Oshiro T, Shiotani A, Shibasaki Y, Sasaki T. Osteoclast induction in periodontal tissue during experimental movement of incisors in osteoprotegerin-deficient mice. *Anat Rec* 2002;266:218-25.
365. Kanzaki H, Chiba M, Takahashi I, Haruyama N, Nishimura M, Mitani H. Local OPG gene transfer to periodontal tissue inhibits orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2004;83:920-5.
366. Dunn MD, Park CH, Kostenuik PJ, Kapila S, Giannobile WV. Local delivery of osteoprotegerin inhibits mechanically mediated bone modeling in orthodontic tooth movement. *Bone* 2007;41:446-55.

367. Low E, Zoellner H, Kharbanda OP, Darendeliler MA. Expression of mRNA for osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa beta ligand (RANKL) during root resorption induced by the application of heavy orthodontic forces on rat molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;128:497-503.
368. Shank SB, Shank K, Caudill R, Foroud T, Wetherill L, Weaver M, et al. Evaluation of SNPs in orthodontic patients with root resorption. *J Dent Res* 2007;86:1922.
369. Lin H, Wang S, Wang R, Wang PS. Tumor necrosis factor- α mediates RANK ligand stimulation of osteoclast differentiation by an autocrine mechanism. *J Cell Biochem* 2001;83:70-83.
370. Fuller K, Murphy C, Kirstein B, Fox SW, Chambers TJ. TNF alpha potently activates osteoclasts, through a direct action independent of and strongly synergistic with RANKL. *Endocrinology* 2002;143:1108-18.
371. Tekkesin MS, Mutlu S, Olgac V. The role of RANK/RANKL/OPG signalling pathways in osteoclastogenesis in odontogenic keratocysts, radicular cysts, and ameloblastomas. *Head Neck Pathol* 201;5:248-53.
372. Kurban S, Mehmetoglu I. Osteoprotegerin, RANK and RANK ligand. *Turk J Biochem* 2007;34:178-84.
373. Stejskal D, Bartek J, Pastorková R, et al. Osteoprotegerin, RANK, RANKL. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2001;145:61-4.
374. Khosla S. Minireview: The OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2000;142:5050-5.
375. Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin: A physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des* 2001;7:613-35.
376. Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:1077-81.
377. Chamoux E, Houde N, L'eriger K, et al. Osteoprotegerin decreases human osteoclast apoptosis by inhibiting the TRAIL pathway. *J Cell Physiol* 2008;216:536-42.
378. Boyce BF, Xing L. Function of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 2008;473:139-46.
379. Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer* 2001;92:460-70.
380. Da Silva TA, Batista AC, Mendonça EF, Leles CR, Fukada S, Cunha FQ. Comparative expression of RANK, RANKL, and OPG in keratocystic odontogenic tumors, ameloblastomas, and dentigerous cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:333-41.
381. Sandra F, Hendarmin L, Kukita T, Nakao Y, Nakamura N, Nakamura S. Ameloblastoma induces osteoclastogenesis: a possible role of ameloblastoma in expanding in the bone. *Oral Oncol* 2005;41:637-44.
382. Wang YP, Liu BY. High expression of osteopontin and CD44v6 in odontogenic keratocysts. *J Formos Med Assoc* 2009;108:286-92.
383. Kumamoto H, Ooya K. Expression of parathyroid hormone-related protein (PTHrP), osteoclast differentiation factor (ODF)/receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF)/osteoprotegerin (OPG) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2004;33:46-52.
384. McKee MD, Nanci A. Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth and osseointegrated implants: ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover and repair. *Microsc Res Tech* 1996;33:141-64.

385. Bronckers AL, Farach-Carson MC, VanWaveren E, Butler WT. Immunolocalization of osteopontin, osteocalcin, and dentin sialoprotein during dental root formation and early cementogenesis in the rat. *J Bone Miner Res* 1994;9:833-41.
386. Choi ST, Kim JH, Kang E, Lee S, Park M, Park Y, et al. Osteopontin might be involved in bone remodelling rather than in inflammation in ankylosing spondylitis. *Rheumatology* 2008;47:1775-9.
387. Reinholt FP, Hultenby K, Oldberg A, Heinegard D. Osteopontin - A possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:4473-5.
388. Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129:469.e1-32.
389. Sodek J, Ganss B, McKee MD. Osteopontin. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:279-303.
390. Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, Pavlin D, Berman JS. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: Regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest* 2001;107:1055-61.
391. Duong LT, Lakkakorpi P, Nakamura I, Rodan GA. Integrins and signaling in osteoclast function. *Matrix Biol* 2000;19:97-105.
392. Lee A, Schneider G, Finkelstein M, Southard T. Root resorption: the possible role of extracellular matrix proteins. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004;126:173-7.
393. Chung CJ, Soma K, Rittling SR, Denhardt DT, Hayata T, Nakashima K, et al. OPN deficiency suppresses appearance of odontoclastic cells and resorption of the tooth root induced by experimental force application. *J Cell Physiol* 2008;214:614-20.
394. Jimenez-Pellegrin C, Arana-Chavez VE. Root resorption repair in mandibular first premolars after rotation. A transmission electron microscopy analysis combined with immunolabeling of osteopontin. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;132:230-6.
395. Iglesias-Linares A, Yáñez-Vico R, Moreno-Fernández A, Mendoza-Mendoza A, Orce-Romero A, Solano-Reina E. Osteopontin gene SNPs (rs9138, rs11730582) mediate susceptibility to external root resorption in orthodontic patients. *Oral Dis* 2013;20:307-12.
396. Götz W, Kunert D, Zhang D, Kawarizadeh A, Lossdörfer S, Jäger A. Insulin-like growth factor system components in the periodontium during tooth root resorption and early repair processes in the rat. *Eur J Oral Sci* 2006;114:318-27.
397. Rosenfeld RG, Roberts CT Jr, eds. *The IGF system - molecular biology, physiology, and clinical applications*. Totowa, NY: Humana Press. 1999;1-800.
398. Le Roith D. The insulin-like growth factor system. *Exp Diabetes Res* 2003;4:205-12.
399. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu J-L, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 2001;22:53-74.
400. Woelfle J, Chia DJ, Massart-Schlesinger MB, Moyano P, Rotwein P. Molecular physiology, pathology, and regulation of the growth hormone/insulin-like growth factor-I system. *Pediatr Nephrol* 2005;20:295-302.
401. Valentinis B, Baserga R. IGF-I receptor signalling in transformation and differentiation. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2001;54:133-7.
402. Rosen CJ, Dimai HP, Vereault D, Donahue LR, Beamer WG, Farley J, et al. Circulating and skeletal insulin-like growth factor-I (IGFI) concentrations in two inbred strains of mice with different bone mineral densities. *Bone* 1997;21:217-23.
403. Celil AB, Campbell PG, Datto M, Wang XF, Hollinger JO, Selvamurugan N, et al. BMP-2 and insulin-like growth factor-I mediate Osterix (Osx) expression in human

- mesenchymal stem cells via the MAPK and protein kinase D signaling pathways. *J Biol Chem* 2005;280:31353-9.
404. Teixeira CD, Zollner NA. Reabsorcao externa por movimientacao ortodontica em dentes com e sem tratamento endodontico. *Rev Bras odont* 2003;60:306-309.
 405. Heravi F, Bayani S, Madani AS, Radvar M, Anbiaee N. Intrusion of supra-erupted molars using miniscrews: clinical success and root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;139:170-5.
 406. Burstone CJ. The biophysics of bone remodeling during orthodontics-optimal force considerations. In: Norton LA, Burstone CJ, eds. *The Biology of Tooth Movement*. Boca Raton, Fla: CRC Press; 1989. p. 321-34.
 407. Boester CH, Johnston LE. A clinical investigation of the concepts of differential and optimal force in canine retraction. *Angle Orthod* 1974;44:113-9.
 408. Quinn RS, Ken Yoshikawa D. A reassessment of force magnitude in orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1985;88:252-60.
 409. Nussbaum RL, McInnes RR, Williard HF. *Genética en medicina*. 5ª ed. Barcelona: Masson; 2004. p. 17-51, p. 83-140.
 410. Palacios UR, Villoslada DP. Conceptos básicos de genética molecular. *Neurol Supl* 2005;1:4-13.
 411. Luque J, Herráez A. *Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética. Conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud*. 1ª ed. Madrid: Editorial Harcourt; 2001. p. 18-42.
 412. James D. Watson. ADN: El secreto de la vida. 2003:17-31.
 413. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Clin Orthop Relat Res* 2007;462:3-5.
 414. Wordpress [homepage en Internet]. San Francisco: Automattic, Inc; c2012 [actualizada 4 noviembre 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://maestroviejo.files.wordpress.com/2012/05/arn-adn.png>
 415. Wordpress [homepage en Internet]. San Francisco: Automattic, Inc; c2012 [actualizada 4 noviembre 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://humanidadindependiente.files.wordpress.com/2013/05/celula-y-adn.jpg>
 416. Nosabesnada.com [homepage en Internet]. Boadilla del Monte: Eduardo Martínez Casanova; c2011 [actualizada 14 marzo 2014; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: http://www.nosabesnada.com/uploads/2012/09/350px-Chromosome-es.svg_.png
 417. Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine - a primer. *N Engl J Med* 2002;347:1512-20.
 418. Sirgo G, Rello J, Bodi M, Díaz E, Pérez Vela JL, Hernández G, et al. Genetic polymorphism in the critically ill patient (I). General aspects, inflammation and sepsis. *Medicina Intensiva* 2003;27:24-31.
 419. Eckhardt RB. Polymorphisms past and present. *Hum Biol* 2003;75:559-75.
 420. Kruglyak L, Nickerson DA. Variation is the spice of life. *Nat Genet* 2001;27:234-6.
 421. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409:928-33.
 422. Iniesta R, Guino E, Moreno V. Statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies. *Gac Sanit* 2005;19:333-41.
 423. Wikimedia.org [homepage en Internet]. San Francisco: Wikimedia Foundation, Inc; c2003 [actualizada 23 agosto 2013; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2e/Dna-SNP.svg>

424. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet* 2002;3:391-7.
425. Burguess AW. Epidermal growth factor and transforming growth factor. *Br Med Bull* 1989;45:401-24.
426. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:151-7.
427. Jin Gao, Symons AL, Bartold MP. Expression of transforming growth factor- β receptors types II and III within various cells in the rat periodontium. *J Periodont Res* 1999;34:113-22.
428. Marx RE. Platelet rich plasma: a source of multiple autologous growth factor for bone grafts. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, eds. *Tissue Engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*. Illinois: Quintessence; 1999. p. 71-82.
429. Da Cunha A, Vitkovic L. Transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) expression and regulation in rat cortical astrocytes. *J Neuroimmunol* 1992;36:157-69.
430. Steigerwalt RW, Rundhaug JE, Nettesheim P. Transformed rat tracheal epithelial cells exhibit alterations in transforming growth factor- β secretion and responsiveness. *Mol Carcinog* 1992;5:32-40.
431. Lyons RM, Moses HL. Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation. *European Journal of Biochemistry* 1990;187:467-73.
432. Peralta-Zaragoza O, Lagunas-Martínez A, Madrid-Marina V. Transforming growth factor beta-1: Structure, function and regulation mechanisms in cancer. *Salud Pública Mex* 2001;43:340-51.
433. Matsuzaki K, Murata M, Yoshida K, Sekimoto G, Uemura Y, Sakaida N, et al. Chronic inflammation associated with hepatitis C virus infection perturbs hepatic transforming growth factor β signaling, promoting cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007;46:48-57.
434. Tandon A, Tovey JCK, Sharma A, Gupta R, Mohan RR. Role of transforming growth factor beta in corneal function, biology and pathology. *Curr Mol Med* 2010;10:565-78.
435. Barnard JA, Lyons RM, Moses HL. The cell biology of transforming growth factor β . *Biochem Biophys Acta* 1990;1032:79-87.
436. Massague J. The transforming growth factor- β family. *Annu Rev Cell Biol* 1990;6:597-641.
437. Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor- β : Recent progress and new challenges. *J Cell Biol* 1992;119:1017-22.
438. Wikipedia.org [homepage en Internet]. San Francisco: Wikimedia Foundation, Inc; c2001 [actualizada 9 mayo 2012; consultado 10 mayo 2014]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/TGF-beta_1
439. Hinck AP, Archer SJ, Qian SW, Roberts AB, Sporn MB, Weatherbee JA, et al. Transforming growth factor β 1: Three-dimensional structure in solution and comparison with the X-ray structure of transforming growth factor β 2. *Biochemistry* 1996;35:8517-34.
440. Massague J. Receptors for the TGF- β family. *Cell* 1992;69:1067-70.
441. Cheifetz S, Hernandez H, Laiho M, Ten Dijke P, Iwata KK, Massagué J. Distinct transforming growth factor- β (TGF- β) receptor subsets as determinants of cellular responsiveness to three TGF- β isoforms. *J Biol Chem* 1990;265:20533-8.
442. Feng XH, Derynck R. Specificity and versatility in tgf-beta signaling through Smads. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005;21:659-93.

443. Nakao A, Röijer E, Imamura T, Souchelnytskyi S, Stenman G, Heldin CH, et al. Identification of Smad2, a human Mad-related protein in the transforming growth factor beta signaling pathway. *J Biol Chem* 1997;272:2896-900.
444. Schmierer B, Hill CS. TGFbeta-SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:970-82.
445. Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003;113:685-700.
446. Goumans MJ, Valdimarsdottir G, Itoh S, Rosendahl A, Sideras P, ten Dijke P. Balancing the activation state of the endothelium via two distinct TGF- β type I receptors. *EMBO J* 2002;21:1743-53.
447. Gallione CJ, Repetto GM, Legius E, Rustgi AK, Schelley SL, Tejpar S, et al. A combined syndrome of juvenile polyposis and hereditary haemorrhagic telangiectasia associated with mutations in MADH4 (SMAD4). *Lancet* 2004;363:852-9.
448. McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW, Gallione CJ, Baldwin MA, Jackson CE, et al. Endoglin, a TGF- β binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet* 1994;8:345-51.
449. Dennler S, Goumans MJ, Ten Dijke P. Transforming growth factor beta signal transduction. *J Leukoc Biol* 2002;71:731-40.
450. Ten Dijke P, Arthur HM. Extracellular control of TGFbeta signalling in vascular development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;8:857-69.
451. Ten Dijke P, Krause C, De Gorter DJJ, Löwik CWGM, Van Bezooijen RL. Osteocyte-derived sclerostin inhibits bone formation: Its role in bone morphogenetic protein and wnt signaling. *J Bone Jt Surg Ser A* 2008;90:31-5.
452. Tsukazaki T, Chiang TA, Davison AF, Attisano L, Wrana JL. SARA, a FYVE domain protein that recruits Smad2 to the TGFbeta receptor. *Cell* 1998;95:779-91.
453. Goumans M, Liu Z, Ten Dijke P. TGF- β signaling in vascular biology and dysfunction. *Cell Res* 2009;19:116-27.
454. Schmierer B, Hill CS. TGF β -SMAD signal transduction: Molecular specificity and functional flexibility. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2007;8:970-82.
455. Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature* 2003;425:577-84.
456. Zawel L, Dai JL, Buckhaults P, Zhou S, Kinzler KW, Vogelstein B, et al. Human Smad3 and Smad4 are sequence-specific transcription activators. *Mol Cell* 1998;1:611-7.
457. Seoane J, Le HV, Shen L, Anderson SA, Massagué J. Integration of Smad and forkhead pathways in the control of neuroepithelial and glioblastoma cell proliferation. *Cell* 2004;117:211-23.
458. Moustakas A, Heldin C. Non-smad TGF- β signals. *J Cell Sci* 2005;118:3573-84.
459. Zhang YE. Non-smad pathways in TGF- β signaling. *Cell Res* 2009;19:128-39.
460. Baylink DJ, Finkelman RD, Mohan S. Growth factors to stimulate bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research* 1993;8:565-72.
461. Streuli CH, Schmidhauser C, Kobrin M, Bissell MJ, Derynck R. Extracellular matrix regulates expression of the TGF- β 1 gene. *J Cell Biol* 1993;120:253-60.
462. Palladino MA, Morris RE, Starnes HF, Levinson AD. The transforming growth factor-betas. A new family of immunoregulatory molecules. *Ann N Y Acad Sci* 1990;593:181-7.
463. Okadome T, Yamashita H, Franzén P, Morén A, Heldin C, Miyazono K. Distinct roles of the intracellular domains of transforming growth factor- β type I and type II receptors in signal transduction. *J Biol Chem* 1994;269:30753-6.

464. Ohtsuki M, Massague J. Evidence for the involvement of protein kinase activity in transforming growth factor- β signal transduction. *Mol Cell Biol* 1992;12:261-5.
465. Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor- β . multiple actions and potential clinical applications. *J Am Med Assoc* 1989;262:938-41.
466. Sporn MB, Roberts AB. TGF-beta: problems and prospects. *Cell Regul* 1990;1:875-82.
467. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE, Stanley A, Ingham E, Walters C, et al. Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 1998;77:956-64.
468. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003;198:1875-86.
469. Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor- β in T-cell biology. *Nature Reviews Immunology* 2002;2:46-53.
470. Wahl SM. Transforming growth factor- β : Innately bipolar. *Curr Opin Immunol* 2007;19:55-62.
471. Adams DH, Hathaway M, Shaw J, Burnett D, Elias E, Strain AJ. Transforming growth factor- β induces human T lymphocyte migration in vitro. *Journal of Immunology* 1991;147:609-12.
472. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235-8.
473. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006;441:231-4.
474. Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgammat. *Nat Immunol* 2008;9:641-9.
475. Beriou G, Bradshaw EM, Lozano E, Costantino CM, Hastings WD, Orban T, et al. TGF- β induces IL-9 production from human Th17 cells. *Journal of Immunology* 2010;185:46-54.
476. Soussi-Gounni A, Kontolemos M, Hamid Q. Role of IL-9 in the pathophysiology of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:575-82.
477. Nowak EC, Weaver CT, Turner H, Begum-Haque S, Becher B, Schreiner B, et al. IL-9 as a mediator of Th17-driven inflammatory disease. *J Exp Med* 2009;206:1653-60.
478. Jagels MA, Hugli TE. Mixed effects of TGF- β on human airway epithelial-cell chemokine responses. *Immunopharmacology* 2000;48:17-26.
479. Jaumann F, Elssner A, Mazur G, Dobmann S, Vogelmeier C. Transforming growth factor- β 1 is a potent inhibitor of secretory leukoprotease inhibitor expression in a bronchial epithelial cell line. *European Respiratory Journal* 2000;15:1052-7.
480. Luo B, Niu R, Feng J, Hu C, Xie X, Ma L. Downregulation of secretory leukocyte proteinase inhibitor in chronic obstructive lung disease: The role of TGF- β /Smads signaling pathways. *Arch Med Res* 2008;39:388-96.
481. McCartney-Francis N, Jin W, Wahl SM. Aberrant toll receptor expression and endotoxin hypersensitivity in mice lacking a functional TGF- β 1 signaling pathway. *Journal of Immunology* 2004;172:3814-21.

482. Mou HB, Lin MF, Cen H, Yu J, Meng XJ. TGF-beta1 treated murine dendritic cells are maturation resistant and down-regulate toll-like receptor 4 expression. *Journal of Zhejiang University Science* 2004;5:1239-44.
483. Marshak-Rothstein A. Toll-like receptors in systemic autoimmune disease. *Nature Reviews Immunology* 2006;6:823-35.
484. Foell D, Wittkowski H, Ren Z, Turton J, Pang G, Daebritz J, et al. Phagocyte-specific S100 proteins are released from affected mucosa and promote immune responses during inflammatory bowel disease. *J Pathol* 2008;216:183-92.
485. Ehrchen JM, Sunderkötter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. *J Leukoc Biol* 2009;86:557-66.
486. Miettinen PJ, Ebner R, Lopez AR, Derynck R. TGF- β induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: Involvement of type I receptors. *J Cell Biol* 1994;127:2021-36.
487. Piek E, Moustakas A, Kurisaki A, Heldin C, Ten Dijke P. TGF- β type I receptor/ALK-5 and smad proteins mediate epithelial to mesenchymal transdifferentiation in NMuMG breast epithelial cells. *J Cell Sci* 1999;112:4557-68.
488. Bhowmick NA, Ghiassi M, Bakin A, Aakre M, Lundquist CA, Engel ME, et al. Transforming growth factor- β 1 mediates epithelial to mesenchymal transdifferentiation through a RhoA-dependent mechanism. *Mol Biol Cell* 2001;12:27-36.
489. Guarino M. Epithelial-to-mesenchymal change of differentiation. from embryogenetic mechanism to pathological patterns. *Histol Histopathol* 1995;10:171-84.
490. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003;112:1776-84.
491. Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M. Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: Epithelial-mesenchymal transition. *Hum Pathol* 2009;40:1365-76.
492. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2006;7:131-42.
493. Yang AH, Chen JY, Lin JK. Myofibroblastic conversion of mesothelial cells. *Kidney Int* 2003;63:1530-9.
494. Lee DBN, Huang E, Ward HJ. Tight junction biology and kidney dysfunction. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 2006;290:20-34.
495. Woo PL, Cha HH, Singer KL, Firestone GL. Antagonistic regulation of tight junction dynamics by glucocorticoids and transforming growth factor- β in mouse mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 1996;271:404-12.
496. Lui W, Lee WM, Cheng CY. Transforming growth factor- β 3 perturbs the inter-estoli tight junction permeability barrier in vitro possibly mediated via its effects on occludin, zonula occludens-1, and claudin-11. *Endocrinology* 2001;142:1865-77.
497. Pierucci-Alves F, Yi S, Schultz BD. Transforming growth factor beta 1 induces tight junction disruptions and loss of transepithelial resistance across porcine vas deferens epithelial cells. *Biol Reprod* 2012;86:36.
498. Wang Z, Ovitt C, Grigoriadis AE, Möhle-Steinlein U, Rütger U, Wagner EF. Bone and haematopoietic defects in mice lacking c-fos. *Nature* 1992;360:741-5.
499. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Goeddel DV. The murine transforming growth factor- β precursor. *J Biol Chem* 1986;261:4377-9.

500. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI, Genco RJ. Mitogenic, chemotactic, and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblastic cells to polypeptide growth factors in vitro. *J Periodontol* 1992;63:515-25.
501. Oates TW, Rouse CA, Cochran DL. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontol* 1993;64:142-8.
502. Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Rittman B, Caffesse RG. Differential effect of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1994;65:641-8.
503. Nishimura F, Terranova VP. Comparative study of the chemotactic responses of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts to polypeptide growth factors. *J Dent Res* 1996;75:986-92.
504. Chien H, Lin W, Cho M. Expression of TGF- β isoforms and their receptors during mineralized nodule formation by rat periodontal ligament cells in vitro. *J Periodont Res* 1999;34:301-9.
505. Ong JL, Carnes DL, Sogal A. Effect of transforming growth factor-beta on osteoblast cells cultured on 3 different hydroxyapatite surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:217-25.
506. Adamo CT, Mailhot JM, Smith AK, Borke JL. Connexin-43 expression in oral-derived human osteoblasts after transforming growth factor-beta and prostaglandin E2 exposure. *J Oral Implantol* 2001;27:25-31.
507. Bosch C, Melsen B, Gibbons R, Vargervik K. Human recombinant transforming growth factor- β 1 in healing of calvarial bone defects. *J Craniofac Surg* 1996;7:300-10.
508. Mohammed S, Pack AR, Kardos TB. The effect of transforming growth factor beta one (TGF-beta 1) on wound healing, with or without barrier membranes, in a Class II furcation defect in sheep. *J Periodontal Res* 1998;33:335-44.
509. Steinsvoll S, Halstensen TS, Schenck K. Extensive expression of TGF- β 1 in chronically-inflamed periodontal tissue. *J Clin Periodontol* 1999;26:366-73.
510. Ruskin JD, Hardwick R, Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Alveolar ridge repair in a canine model using rhTGF- β 1 with barrier membranes. *Clin Oral Implants Res* 2000;11:107-15.
511. Hong L, Tabata Y, Miyamoto S, Yamada K, Aoyama I, Tamura M, et al. Promoted bone healing at a rabbit skull gap between autologous bone fragment and the surrounding intact bone with biodegradable microspheres containing transforming growth factor- β 1. *Tissue Eng* 2000;6:331-40.
512. Yamamoto M, Tabata Y, Hong L, Miyamoto S, Hashimoto N, Ikada Y. Bone regeneration by transforming growth factor β 1 released from a biodegradable hydrogel. *J Controlled Release* 2000;64:133-42.
513. Centrella M, Horowitz MC, Wozney JM, McCarthy TL. Transforming growth factor- β gene family members and bone. *Endocr Rev* 1994;15:27-39.
514. Robey PG, Young MF, Flanders KC, Roche NS, Kondaiah P, Reddi AH, et al. Osteoblasts synthesize and respond to transforming growth factor-type β (TGF- β) in vitro. *J Cell Biol* 1987;105:457-63.
515. Maeda S, Hayashi M, Komiya S, Imamura T, Miyazono K. Endogenous TGF- β signaling suppresses maturation of osteoblastic mesenchymal cells. *EMBO J* 2004;23:552-63.
516. Komarova SV, Smith RJ, Dixon SJ, Sims SM, Wahl LM. Mathematical model predicts a critical role for osteoclast autocrine regulation in the control of bone remodeling. *Bone* 2003;33:206-15.

517. Yuan X, Liao Z, Liu Z, Wang L, Tucker SL, Mao L, et al. Single nucleotide polymorphism at rs1982073:T869c of the TGF β 1 gene is associated with the risk of radiation pneumonitis in patients with non-small-cell lung cancer treated with definitive radiotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 2009;27:3370-8.
518. Lu Y, Boer JMA, Barsova RM, Favorova O, Goel A, Müller M, et al. TGFB1 genetic polymorphisms and coronary heart disease risk: A meta-analysis. *BMC Medical Genetics* 2012;18:13-39.
519. Scollen S, Luccarini C, Baynes C, Driver K, Humphreys MK, Garcia-Closas M, et al. TGF- β signaling pathway and breast cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2011;20:1112-9.
520. The World Medical Association [página web]. Ferney-Voltaire, France: WMA; 2004 [fecha de acceso: 24/02/2012]. Publications [WMA Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects]. <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>
521. Hemanth M, Raghuveer HP, Rani MS, Hegde C, Kabbur KJ, Vedavathi B, Chaithra D. An Analysis of the Stress Induced in the Periodontal Ligament during Extrusion and Rotation Movements: A Finite Element Method Linear Study Part I. *J Contemp Dent Pract* 2015;16:740-3.
522. Fontana MLSSN, De Souza CM, Bernardino JF, Hoette F, Hoette ML, Thum L, et al. Association analysis of clinical aspects and vitamin D receptor gene polymorphism with external apical root resorption in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2012;142:339-47.
523. Taner T, Cığır S, Şençift Y. Evaluation of apical root resorption following extraction therapy in subjects with class I and class II malocclusions. *Eur J Orthod* 1999;21:491-6.
524. Levander E, Malmgren O, Eliasson S. Evaluation of root resorption in relation to two orthodontic treatment regimes. A clinical experimental study. *Eur J Orthod* 1994;16:223-8.
525. Brezniak N, Goren S, Zoizner R, Dinbar A, Arad A, Wasserstein A, et al. A comparison of three methods to accurately measure root length. *Angle Orthod* 2004;74:786-91.
526. Gabriel S, Ziaugra L, Tabbaa D. SNP genotyping using the sequenom massARRAY iPLEX platform. *Curr Protoc Hum Genet* 2009;2:2.12.
527. Houston WJB. The analysis of errors in orthodontic measurements. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1983;83:382-90.
528. Fleiss JL, Levin B. Sample size determination in studies with matched pairs. *J Clin Epidemiol* 1988;41:727-30.
529. Sobel E, Papp JC, Lange K. Detection and integration of genotyping errors in statistical genetics. *Am J Hum Genet* 2002;70:496-508.
530. Purcell S, Cherny SS, Sham PC. Genetic Power Calculator: design of linkage and association genetic mapping studies of complex traits. *Bioinformatics* 2003;19:149-150.
531. Sánchez-Villegas A, Martínez González A, Palma S. Análisis de la concordancia. En: Martínez-González MA, Sánchez-Villegas A, Faulin Fajardo J. *Bioestadística amigable*. 2ª edición. Madrid: Díaz de Santos; 2006. p. 823-26.
532. Stramotas S, Geenty JP, Petocz P, Darendeliler MA. Accuracy of linear and angular measurements on panoramic radiographs taken at various positions in vitro. *Eur J Orthod* 2002;24:43-52.

533. De Azevedo Vaz SL, Vasconcelos TV, Neves FS, de Freitas DQ, Haiter-Neto F. Influence of cone-beam computed tomography enhancement filters on diagnosis of simulated external root resorption. *J Endod* 2012;38:305-8.
534. Tieu LD, Normando D, Toogood R, Flores-Mir C. Impact on perceived root resorption based on the amount of incisal inclination as determined from conventional panoramic radiography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2015;148:685-91.
535. Hendrix I, Carels C, Kuijpers-Jagtman AM, Van't Hof M. A radiographic study of posterior apical root resorption in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994;105:345-9.
536. Alqerban A, Jacobs R, Souza PC, Willems G. In-vitro comparison of 2 cone-beam computed tomography systems and panoramic imaging for detecting simulated canine impaction-induced external root resorption in maxillary lateral incisors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;136:764.e1-11.
537. Katona TR. The flaws in tooth root resorption assessment algorithms: the role of source position. *Dentomaxillofac Radiol* 2007;36:311-6.
538. Mountford PJ, Temperton DH Recommendations of the International Commission on Radiological Protection (ICRP) 1990. *Eur J Nucl Med* 1992;19:77-9.
539. Kumar V, Gossett L, Blattner A, Iwasaki LR, Williams K, Nickel JC. Comparison between cone-beam computed tomography and intraoral digital radiography for assessment of tooth root lesions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;139:e533-41.
540. Katona TR. Flaws in root resorption assessment algorithms: role of tooth shape. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130:698.e19-27.
541. Savoldi F, Bonetti S, Dalessandri D, Mandelli G, Paganelli C. Incisal Apical Root Resorption Evaluation after Low-Friction Orthodontic Treatment Using Two-Dimensional Radiographic Imaging and Trigonometric Correction. *J Clin Diagn Res* 2015;9:70-4.
542. Fritz U, Diedrich P, Wiechmann D. Apical root resorption after lingual orthodontic therapy. *J Orofac Orthop* 2003;64:434-42.
543. Biros E, Clancy P, Norman PE, Golledge J. A genetic polymorphism in transforming growth factor beta receptor-2 is associated with serum osteopontin. *Int J Immunogenet* 2009;36:241-4.
544. Piva L, Gavassini BF, Bello L, Fanin M, Soraru G, Barp A, et al. TGFBR2 but not SPP1 genotype modulates osteopontin expression in Duchenne muscular dystrophy muscle. *J Pathol* 2012;228:251-9.
545. Lim WH, Toothman J, Miller JH, Tallents RH, Brouxhon SM, Olschowka ME, et al. IL-1beta inhibits TGFbeta in the temporomandibular joint. *J Dent Res* 2009;88:557-62.
546. Jacobson O. Clinical significance of root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1952;38:687-96.
547. Weiland F. Constant versus dissipating forces in orthodontics: the effect on initial tooth movement and root resorption. *Eur J Orthod* 2003;25:335-42.
548. Sawicka M, Bedini R, Wierzbicki PM, Pameijer CH. Interrupted orthodontic force results in less root resorption than continuous force in human premolars as measured by microcomputed tomography. *Folia Histochem Cytobiol.* 2014;52:289-96.
549. Wainwright WM. Faciolingual tooth movement: its influence on the root and cortical plate. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1973;64:278-302.

- 550. Levander E, Malmgren O, Stenback K. Apical root resorption during orthodontic treatment of patients with multiple aplasia: a study of maxillary incisors. *Eur J Orthod* 1998;20:427-34.
- 551. Artun J, Smale I, Behbehani F, Doppel D, Van't Hof M, Kuijpers-Jagtman AM. Apical root resorption six and 12 months after initiation of fixed orthodontic appliance therapy. *Angle Orthod* 2005;75:919-26.
- 552. Levander E, Malmgren O. Early radiographic diagnosis of apical root resorption during orthodontic treatment: a study of maxillary incisors. *Eur J Orthod* 1998;20:57-63.
- 553. Kocadereli I, Yesil TN, Veske PS, Uysal S. Apical Root Resorption: A Prospective Radiographic Study of Maxillary Incisors. *Eur J Dent* 2011;5:318-23.
- 554. Copeland S, Green LJ. Root resorption in maxillary central incisors following active orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1986;89:51-5.
- 555. Dougherty HL. The effect of mechanical forces upon the mandibular buccal segments during orthodontic treatment. Part 1. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1968;54:29-49.

ANEXOS

ANEXO I. ABREVIATURAS

A lo largo de la presente memoria de Tesis Doctoral se ha utilizado terminología española e inglesa en cuanto a abreviaturas se refiere, por correspondencia con los términos utilizados en la literatura científica.

A: Adenina.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ALK1: Activin receptor-like kinase-1.

ALK5: Activin receptor-like kinase-5.

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico.

ARN: Ácido ribonucleico.

ATP: Adenosín Trifosfato.

α -SMA: actina del músculo liso alfa.

C: Citosina.

C1: Longitud coronal inicial.

C2: Longitud coronal final.

Ca²⁺: Calcio.

Ca(OH)₂: Hidróxido de calcio

CFU-GM: Unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos.

DAMPs: alarmitas o patrones moleculares asociados a daño.

DZ: Gemelos dicigóticos.

EGF: Epidermal growth factor.

EMT: Transición epitelio mesenquimal.

FA: Fosfatasa alcalina.

FATR: Fosfatasa ácida tartrato resistente.

FEO: Osteolisis expansiva familiar.

FGT: Factores generales de transcripción.

FSP1: Proteína 1 específica de fibroblastos.

GM-CSF: Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos.

G: Guanina.

GH: Hormona del crecimiento.

GM-CSF: Factor Estimulante del crecimiento de colonias de granulocitos.

GPa: Gigapascal.

IFN γ : Interferón gamma.
IgA: Inmunoglobulina A.
IgG: Inmunoglobulina G.
IgM: Inmunoglobulina M.
IGF: Factores de crecimiento insulínico dependientes.
IGF1R: Receptor de IGF-1.
IL-1: Interleuquina 1.
IL-3: Interleuquina 3.
IL-4: Interleuquina 4.
IL-6: Interleuquina 6.
IL-9: Interleuquina 9.
IL-23: Interleuquina 23.
IL1A: gen de la IL1A.
IL-1 α : Proteína Interleuquina 1 alfa.
IL1B: gen de la IL1B.
IL-1 β : Proteína Interleuquina 1 beta.
IL-6: Interleuquina 6.
IL-11: Interleuquina 11.
IL1RN: Gen de la interleuquina 1 del Receptor antagonista.
Índice k: coeficiente de correlación intraexaminador.
JNK: c-Jun N-terminal cinas.
K⁺: Potasio.
KDa: KiloDalton.
LAP: Péptido asociado a latencia.
LPC: Lisofosfatidilcolina.
M-CSF: Factor Estimulante del crecimiento de colonias de macrófagos.
MAPKs: Mitogen activated protein kinases.
MEC: Matriz extracelular.
MesH: Medical Subject Headings.
Mg²⁺: Magnesio.
MMP: Metaloproteinasas de la matriz.
MZ: Gemelos monocigóticos.
mmHG: milímetros de mercurio
 μ m: Micrómetro.

Na⁺: Sodio.
nm: Nanómetro.
OPG: Osteoprotegerina.
OPN: Osteopontina.
OR: Odds ratio.
P2RX7: Receptor de P2X7.
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.
PDB: Enfermedad de Paget del hueso.
PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
PGE: Prostaglandina.
PTH: Hormona paratiroidea.
R1: Longitud radicular inicial.
R2: Longitud radicular final.
RANK: Receptor del activador del factor nuclear kappa beta.
RANK-L: Ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa beta.
RGT: Regeneración tisular guiada.
RR: Reabsorción radicular.
RRAE: Reabsorción radicular apical externa.
RRAI: Reabsorción radicular apical interna.
RRE: Reabsorción radicular externa.
R-Smads: receptor de las Smads.
SARA: Smad anchor for receptor activation.
SBE: Smad-binding elements.
SLPI: Secretory leucocyte proteinase inhibitor.
SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido.
T: Timina.
TGFβRI-V: Receptores para el TGF-β del 1 al 5.
TGF-α: Factor de crecimiento transformante alfa.
TGF-β: Factor de crecimiento transformante beta.
TGF-β1: Factor de crecimiento transformante beta 1.
TGF-β2: Factor de crecimiento transformante beta 2.
TGF-β3: Factor de crecimiento transformante beta 3.
TGF-β4: Factor de crecimiento transformante beta 4.
TGF-β5: Factor de crecimiento transformante beta 5.

TGF- β 6: Factor de crecimiento transformante beta 6.

TJ: Proteínas de unión estrecha.

TLR: Receptores tipo toll.

TNF: Factor de necrosis tumoral.

TNFRSF: Receptor de factor de necrosis tumoral.

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

TNSALP: Tejido no específico fosfatasa alcalina.

TRAP: Fosfatasa ácida resistente a tartrato.

Treg: linfocitos T reguladores.

VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial.

EGF: Factor de crecimiento epidérmico.

ANEXO II. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA



**Informe Dictamen Favorable
Proyecto Investigación Biomédica**

C.P. TGFB Y RRAA - C.I.

17 de abril de 2015

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

CERTIFICA

Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 27/03/2015, acta 03/2015 ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

Título: PAPEL DEL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGFB) EN LA INFLUENCIA GENÉTICA A LA REABSORCIÓN RADICULAR APICAL EXTERNA DURANTE EL TRATAMIENTO DE ORTODONCIA.

Código Promotor: TGFB Y RRAA **Código Interno:** 0875-N-14

Promotor: Investigador

1º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

3º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Alejandro Iglesias Linares
Universidad de Sevilla

Lo que firmo en Sevilla, a 17 de abril de 2015

Fdo:

NOMBRE
SANCHEZ
MARGALET
VICTOR MANUEL
NIF 28691159Q

Firmado digitalmente por NOMBRE
SANCHEZ MARGALET VICTOR
MANUEL - NIF 28691159Q
Nombre de reconocimiento (DN):
c=es, o=FNMT, ou=fnmt clase 2 ca,
ou=703002447, cn=NOMBRE
SANCHEZ MARGALET VICTOR
MANUEL - NIF 28691159Q
Fecha: 2015.04.17 14:37:00 +02'00'

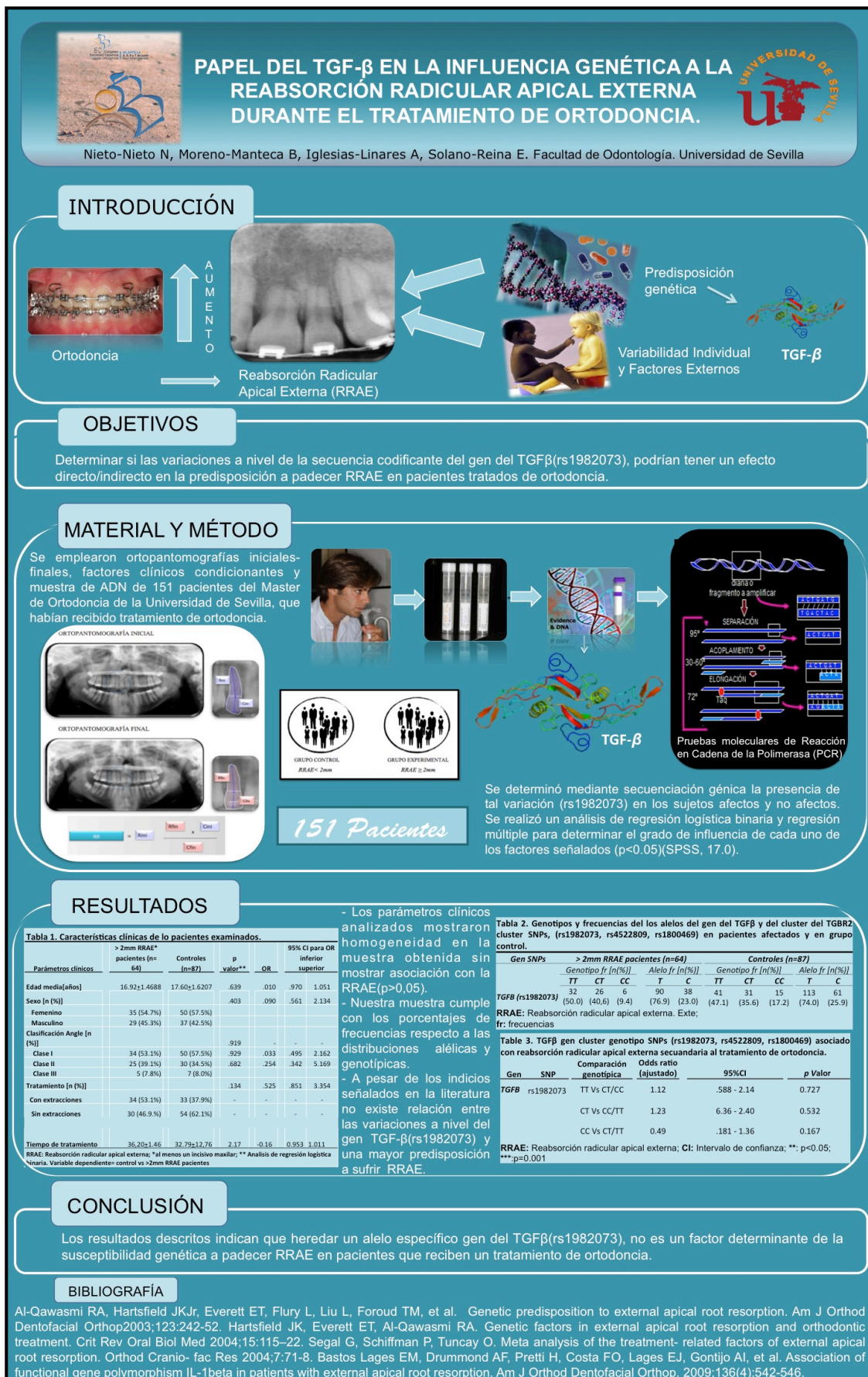
Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

PUBLICACIONES

- Exposición de Póster y Premio al Primer Poster “Papel del TGF- β en la influencia genética a la reabsorción radicular apical externa durante el tratamiento de ortodoncia.” 60ª Congreso de la Sociedad Española de Ortodoncia. Islantilla.



- Premio Juan Pedro Moreno al Primer Poster. Sedo Islantilla 2014.



- Certificado premio Juan Pedro Moreno al Primer Poster. Sedo Islantilla 2014.



- Publicación de artículo en la revista de la Sociedad Española de Ortodoncia “*Papel del TGF- β en la influencia genética a la reabsorción radicular apical externa durante el tratamiento de ortodoncia.*”

ARTÍCULO ORIGINAL

Papel del TGF β en la influencia genética a la reabsorción radicular apical externa durante el tratamiento de ortodoncia.

Nieto-Nieto N¹
 Iglesias-Linares A²
 Moreno-Manteca B¹
 Solano-Reina E¹

¹ Facultad de Odontología. Universidad de Sevilla

² Facultad de Odontología. Universidad Complutense de Madrid.

Correspondencia:
 Nuria Nieto Nieto
 C/Francisco Pizarro Nº 4
 06176 La Morera (Badajoz)
 nurnie27@hotmail.com

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La reabsorción radicular es un proceso patológico de origen multifactorial relacionado con la pérdida permanente de estructura dental radicular como respuesta a un estímulo mecánico, inflamatorio, autoinmune y/o infeccioso.

En el contexto de la reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento ortodóncico (RRAE), se ha descrito una predisposición genética como factor etiológico independiente en paralelo a factores mecánico-dependientes derivados del tratamiento ortodóncico.

OBJETIVO: Determinar si las variaciones a nivel de la secuencia codificante del gen del TGF β , podrían tener un efecto directo/indirecto en la predisposición a padecer un proceso de RRAE en pacientes tratados de ortodoncia.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se invitó a participar en el estudio a 151 pacientes ortodóncicos procedentes del Master de Ortodoncia de la Universidad de Sevilla. Se realizó un genotipado de la muestra, recopilándose los factores clínicos potencialmente relacionados con el proceso reabsorptivo. Se emplearon proyecciones radiográficas pre y post-tratamiento ortodóncico. Se evaluaron las medidas radiculares de incisivos maxilares pre y post tratamiento. Se realizó un análisis de regresión logística binaria y regresión múltiple para determinar el grado de influencia de cada uno de los factores señalados ($p < 0.05$).

RESULTADOS: Los parámetros clínicos analizados mostraron homogeneidad en la muestra obtenida sin mostrar asociación diferencial con la RRAE respecto a los controles ($p > 0.05$). La muestra del presente estudio presentó porcentajes y distribuciones alélicas y genotípicas similares a los observados en la población general. A pesar de los indicios señalados en la literatura no se observó relación alguna ($p > 0.05$) entre las variaciones a nivel del gen TGF β y una mayor predisposición a sufrir RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia.

CONCLUSIONES: Los resultados descritos indican que heredar un alelo específico gen del TGF β en una región codificante del mismo, no es un factor determinante de la susceptibilidad genética a padecer RRAE en pacientes que reciben un tratamiento de ortodoncia.

PALABRAS CLAVES: Reabsorción radicular apical externa, ortodoncia, TGF β , genética.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Root resorption is a pathological process of multifactorial origin related to the permanent loss of dental root structure in response to a stimulus mechanical, inflammatory, autoimmune or infectious. In the context of the external apical root resorption secondary to treatment orthodontic (RRAE), genetic predisposition has been described as an etiological factor along with mechanical factors derived from orthodontic treatment.

OBJECTIVE: To determine whether variants at the level of the coding sequence of the gene of the TGF β , might be associated with a predisposition to suffer RRAE in orthodontics patients.

MATERIAL AND METHODS: One hundred and fifty one orthodontic patients from the Master's program of Orthodontics were invited to participate in the study in the University of Sevilla. All subjects were genotyped, and the clinical factors potentially related to the reabsorptive process were collected. Pre and post treatment radiographic projec-

tions were used to assess root resorption on maxillary incisors. A binary logistic regression and multiple regression analysis was conducted to determine the degree of influence of each of the included factors ($p < .05$).

RESULTS: The clinical parameters analyzed showed homogeneity of the sample showing no specific association with the RRAE compared to controls ($p > .05$). The sample of this study presented percentages and distributions allelic and genotypic similar to those observed in the general population. Despite the evidence referred to in the literature, no association ($p > .05$) was found between the variants at the level of the TGF β gene and an increased susceptibility to suffer from RRAE secondary to orthodontic treatment.

CONCLUSIONS: The findings described indicate that inherit a specific allele of the TGF β gene is not a determinant of genetic susceptibility to suffer from RRAE in patients undergoing orthodontic treatment.

KEY WORDS: external apical root resorption, orthodontics, TGF β , genetic.

INTRODUCCIÓN

La reabsorción radicular es un proceso patológico de origen multifactorial donde se pierde tejido dental y en ocasiones acompañado de pérdida a nivel del hueso alveolar, producida muchas veces como respuesta a los procesos patológicos como infecciones de tipo crónico, ya sea de la pulpa o del ligamento periodontal.¹⁻⁵

Se ha descrito que tiene una influencia genética y está influenciada por los tratamientos de ortodoncia, teniendo como consecuencia la pérdida de tejido, ya que afecta al cemento y a la dentina de la raíz de un diente o un conjunto de dientes.⁶⁻⁸

Cuando la reabsorción radicular se produce en dentición temporal es un proceso normal, esencial y fisiológico. Normalmente este fenómeno se produce previamente a la erupción de los dientes permanentes; activado por fuerzas generadas por la propia erupción y por el aumento de las fuerzas masticatorias generado durante el desarrollo de la dentición permanente.^{9,10}

La reabsorción radicular en dientes permanentes no ocurre de forma natural y convencionalmente tiene una naturaleza inflamatoria. Así, la reabsorción radicular en la dentición permanente es un evento patológico, que si no es tratado, puede resultar en la pérdida prematura del diente afectado.^{11,12}

La reabsorción en dientes permanentes secundaria al tratamiento ortodóncico fue por primera vez descrita por Bates S. en 1856,¹³ y posteriormente por Ottolengui R. en 1914.¹⁴ Las fuerzas ortodóncicas excesivas y mal manejadas pueden ocasionar una

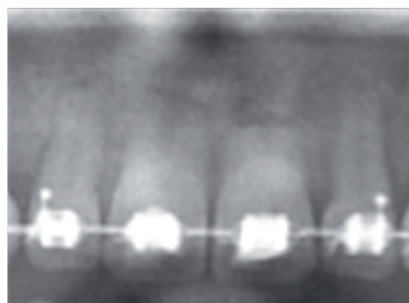


Figura 1: Reabsorción radicular apical externa en una paciente con aparatología fija ortodóncica.

reabsorción de superficie, inflamatoria, por lo general transitoria a nivel del cemento y/o dentina.⁵

La reabsorción radicular apical externa (RRAE) es una complicación relativamente común observada tras la finalización del tratamiento de ortodoncia. Consiste en un acortamiento permanente del ápice radicular, el cual se puede diagnosticar en una proyección radiográfica de rutina.^{15,16}

La reabsorción radicular es un efecto indeseable que puede afectar a la vitalidad a largo plazo de toda la dentición, la literatura indica que los pacientes que están recibiendo tratamiento de ortodoncia tienen una mayor predisposición a padecer un severo acortamiento de la raíz (Figura 1).

ARTÍCULO ORIGINAL

Papel del TGF β en la influencia genética a la reabsorción radicular...

La reabsorción radicular es un efecto secundario que paradójicamente se encuentra íntimamente relacionado con la respuesta del tejido biológico,^{4,17,18} que permite que los dientes se muevan durante el tratamiento de ortodoncia y se asoció por primera vez en 1914.¹⁴ Sin embargo, la reabsorción radicular apical externa no sólo está asociada con el tratamiento de ortodoncia, también se ha detectado en pacientes con ausencias dentarias, profundidad aumentada de sondaje periodontal, reducción de las alturas de la cresta ósea¹⁶ e incluso como resultado de las fuerzas oclusales.¹⁹

En dientes examinados histológicamente, se ha detectado reabsorción radicular en el 100% de los dientes tratados con ortodoncia y menos frecuente en dientes examinados con ortopantomografía o con radiografías intraorales.²⁰⁻²³ La reabsorción radicular detectable histológicamente puede ser un paso preliminar a la detección de reabsorción radicular apical externa permanente, la cual se detecta radiográficamente.

Aunque la reabsorción radicular apical externa puede ocurrir en todos los dientes, se ha descrito más frecuentemente en los incisivos maxilares, seguido de los incisivos mandibulares y primeros molares.²⁴⁻³¹

En los incisivos maxilares ocurre con varios grados de incidencia y severidad.³² No se ha establecido

claramente si esto se debe a que son los dientes que se mueven más rápido o porque poseen una sola raíz, delgada y con forma cónica.

La etiología de la RRAE es compleja y de carácter multifactorial, pero los resultados extraídos de la literatura permiten afirmar que la reabsorción radicular es causada por una combinación de factores biológicos individuales, predisposición genética y factores externos, entre los que se incluyen los factores mecánicos.^{19,33-36} Aunque muchos factores son los que influyen en la aparición de la reabsorción radicular, ninguno es suficiente para explicar por sí mismo la variación individual o la susceptibilidad a padecer la reabsorción radicular apical externa. Ambos, factores genéticos y ambientales interactúan para desarrollar un fenotipo.¹⁵

Desde que las fuerzas mecánicas y otros factores ambientales no explican adecuadamente la variación observada entre expresiones individuales de RRAE, un mayor interés se ha centrado en el papel de los factores genéticos sobre la susceptibilidad a padecer RRAE.³⁷

Se estima que los factores genéticos pueden explicar aproximadamente el 64% de la variación RRAE en los seres humanos. Los datos actuales sugieren que más de un gen está involucrado en el proceso de la enfermedad.³⁷

El TGF- β 1 es un regulador de las actividades celulares con múltiples efectos biológicos, cuya identificación ha permitido entender los mecanismos por los cuales las funciones celulares están reguladas en la salud y alteradas en la enfermedad.³⁸⁻⁴⁰ Es sintetizado por muchas estirpes celulares como linfocitos, fibroblastos, macrófagos, miocitos, astrocitos, condrocitos, células epiteliales, células del riñón, células de placenta y plaquetas, así como por algunas células tumorales, y su expresión regula de manera autocrina o paracrina la diferenciación, proliferación y el estado de activación de éstas y muchas otras células (Figura 2). En general, el TGF- β 1 tiene propiedades pleiotrópicas en la respuesta inmune durante el desarrollo de infecciones y procesos neoplásicos; aunque, los mecanismos de acción y regulación de la expresión de este factor de crecimiento aún no se comprenden del todo.⁴¹

Entre las diferentes acciones biológicas el TGF- α destaca⁴² por aumentar la proliferación y la migración de células epiteliales, liberar iones calcio del hueso, inhibir la actividad de los osteoblastos, tienen efecto angiogénico e intervienen en el desarrollo tumoral tanto de una forma autocrina como paracrina. El TGF- β por su parte, es un potente estimulador de la formación ósea, potenciando la diferenciación osteoblástica y la síntesis de la matriz osteoide e in-

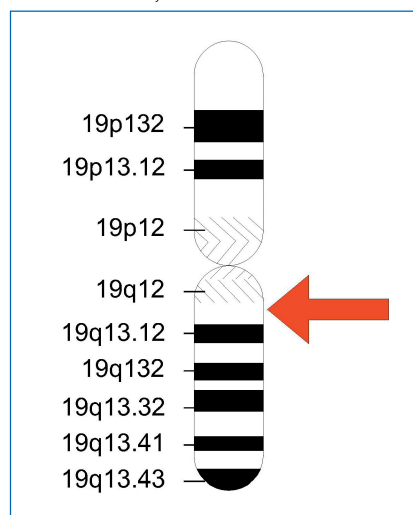


Figura 2: Imagen representativa de la región de localización del gen del TGF β (rs1982073) en el cromosoma 19q13.1

hibiendo la síntesis de proteasas [entre las que destacan la metaloproteasa de la matriz (MMP), enzima que degrada la misma]. Además, inhibe la reabsorción al reducir la formación y diferenciación de los osteoclastos, así como la actividad de los osteoclastos maduros y actúa estimulando su apoptosis.⁴³

El objetivo de este estudio es determinar si las variaciones a nivel de la secuencia codificante del gen del TGF β , podrían tener un efecto directo/indirecto en la predisposición a padecer un proceso de RRAE en pacientes tratados de ortodoncia.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente estudio ha sido realizada una búsqueda bibliográfica de la literatura científica en relación a la reabsorción radicular apical externa, su relación con la ortodoncia y la influencia genética debido a variaciones genéticas presentes en el ADN, que incrementan la susceptibilidad de padecer reabsorción radicular apical externa secundaria al tratamiento de ortodoncia, centrándonos en el TGF- β [Figura 2].

La revisión bibliográfica se llevó a cabo mediante la búsqueda en la base de datos Medline (Entrez PubMed, www.ncbi.nlm.nih.gov), SCOPUS, Embase, Ebscohost, Scielo y SCIRUS incluyendo publicaciones sin límite anterior de tiempo hasta Mayo del 2014. Adicionalmente se realizó una revisión manual para identificar estudios potenciales no incluidos en los criterios de selección designados para esta búsqueda. Los términos empleados en la búsqueda, usando diversas combinaciones e incluyendo la combinación de términos cruzados además de, tener en cuenta los criterios de inclusión pautados, fueron los términos Mesh [Medical Subject Headings]: "root resorption" o "external apical root resorption", combinados a través del conector "AND" con: "orthod*", "OR" "Transforming Growth Factor beta", "OR" "TGF- β ", "OR" "etiology", "OR" "genetic*".

Para la puesta a prueba y demostración de la hipótesis planteada, se planteó un estudio observacional analítico de casos y controles. El posterior análisis genotípico de las muestras se realizó en el contexto del Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Universidad de Sevilla y en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

Este estudio se realizó con el consentimiento informado de cada sujeto por escrito y de acuerdo con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos descrito en la Declaración de Helsinki.⁴⁴ Todos los datos clínicos fueron tratados bajo anonimato y absoluto secreto profesional. Asimismo

el presente trabajo contó con la aprobación del Comité Ético de Experimentación de la Universidad de Sevilla para la investigación en humanos.

En el estudio participaron 151 pacientes que habían finalizado el tratamiento de ortodoncia con aparatología fija, los cuales fueron seleccionados consecutivamente en el Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla, previa invitación de los mismos. Los criterios de inclusión de los pacientes que participaron en el estudio se tomaron siguiendo metodología descrita en estudios previos.⁴⁵

La muestra se dividió en dos grupos de estudio, en base a la existencia o no de RRAE una vez finalizado el tratamiento ortodóncico.^{36,46-48}

Se registraron los siguientes parámetros clínicos de cada paciente; la edad de inicio del tratamiento,^{26,35,49,50-53} el sexo,^{19,25,51,54,55} la clase de Angle (clase I, II, III),^{16,25,56} si el tratamiento se ha llevado a cabo con o sin extracciones,^{57,58} así como la duración total del tratamiento.^{20,25,51,57} Distintos autores han empleado estas variables previamente en estudios similares de asociación genética y RRAE.^{9,36,46-48,59}

Para la determinación de existencia de RRAE se emplearon las proyecciones radiográficas requeridas de rutina para el diagnóstico ortodóncico, ortopantomografías iniciales y finales de todos los pacientes que participaron en el estudio, con el objetivo de medir las longitudes radiculares pre- y post-tratamiento ortodóncico, tal y como ha sido descrito en estudios validados y publicados anteriormente en la literatura.^{19,36}

Todas las radiografías fueron digitales, y se empleó un software para realizar la cuantificación (AutoCAD, Autodesk, 2014, California) que permitió emplear filtros de imagen para optimizar la precisión a la hora de localizar los puntos terminales de las raíces. Además estas radiografías fueron calibradas previamente, siendo corregido el factor de magnificación.

Los dientes de estudio fueron el incisivo central o lateral superior que presentase el de mayor grado de reabsorción tras el tratamiento ortodóncico. Para la valoración del grado de reabsorción observado se empleó una modificación del método de Linge L y Linge B0,^{26,59} para medir la longitud de la raíz del diente seleccionado pre- y post-tratamiento y determinar los cambios de la longitud dental y radicular. Asumiendo una constancia en la longitud coronal durante el tratamiento con ortodoncia, la proporción entre la longitud coronal inicial [c1] y la final [c2], determinó el factor de alargamiento entre las radiografías pre- y post-tratamiento. Todos los procedimientos que se han descrito fueron realizados

ARTÍCULO ORIGINAL

Papel del TGFβ en la influencia genética a la reabsorción radicular...

Tabla 1.
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES EXAMINADOS.

PARÁMETROS CLÍNICOS	PACIENTES CON RRAE* (N= 64)	CONTROLES (N=87)	P VALOR**	OR	95% CI	
					INFERIOR	SUPERIOR
Edad media[años]	16,92±1,4688	17,60±1,6207	0,639	0,010	0,970	1,051
Sexo [n (%)]			0,403	0,090	0,561	2,134
Femenino	35 (54,7%)	50 (57,5%)				
Masculino	29 (45,3%)	37 (42,5%)				
Clasificación Angle [n (%)]			0,919	—	—	—
Clase I	34 (53,1%)	50 (57,5%)	0,929	0,033	0,495	2,162
Clase II	25 (39,1%)	30 (34,5%)	0,682	0,254	0,342	5,169
Clase III	5 (7,8%)	7 (8,0%)				
Tratamiento [n (%)]			0,134	0,525	0,851	3,354
Con extracciones	34 (53,1%)	33 (37,9%)	—	—	—	—
Sin extracciones	30 (46,9%)	54 (62,1%)	—	—	—	—
Tiempo de tratamiento	36,20±1,46	32,79±12,76	2,17	-0,16	953	1,011

por el mismo observador experimentado y calibrado [N.N.N] para prevenir el error interobservacional. Adicionalmente se determinó el coeficiente de correlación intraexaminador y fiabilidad intra-examinador en la clasificación radiológica de RRAE en los sujetos del grupo experimental y del grupo control.

Para determinar la precisión del método, se realizaron mediciones dobles de 15 ortopantomografías tomadas aleatoriamente. Las mediciones se realizaron en diferentes momentos, con un intervalo de diferencia entre ellas de 3 semanas, y luego fueron comparadas estadísticamente mediante el test t de Student para muestras pareadas, considerando como indicativo de concordancia entre los valores medios la ausencia de significancia estadística [$p > 0,05$].

El error del método se calculó a partir de la siguiente ecuación: $SE = \sqrt{(d^2/2n)}$, donde d es la diferencia entre el doble de las mediciones y n el número de pares de mediciones dobles.⁴⁰

Se recogieron muestras de ADN en cada uno de los pacientes del estudio que fueron procesadas en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla y donde se analizaron las variaciones de interés a nivel del cluster de genes del TGFβ descritos con anterioridad. La determinación de la secuencia del

gen TGFβ (rs1982073) se amplificó mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) con primers específicos para las regiones de interés a nivel del loci cromosómico diana.

Se realizó un análisis de regresión logística binaria para analizar la extensión de interferencia de los parámetros clínicos en ambos grupos de pacientes, control y experimental. Se determinó la normalidad de la muestra seleccionada y en base a los resultados se empleó inicialmente un análisis de regresión logística multivariante y el test de Chi-Cuadrado para investigar la asociación de los polimorfismos descritos en el gen del TGFβ, las distribuciones genotípicas y las frecuencias alélicas en los sujetos de ambos grupos. El riesgo de RRAE asociado con los alelos o genotipos se calculó usando la Odds Ratio (OR) para cada marcador, con determinación de los intervalos de confianza del 95%. El programa que se empleó para la realización de los análisis estadísticos fue el SPSS (versión 17.0; LEAD Technologies, Inc., Chicago, IL, EEUU). Se tomó un valor de $p < 0,05$ como valor umbral para determinar las asociaciones estadísticamente significativas.

RESULTADOS

Los parámetros clínicos analizados (edad, tiempo de tratamiento, sexo, clase de Angle, tratamiento

con/sin extracciones) mostraron homogeneidad en la muestra obtenida sin mostrar asociación con la RRAE ($p>0,05$), tal y como se muestra en la Tabla 1.

La edad media de inicio de tratamiento fue de 16,9 años para el grupo experimental y de 17,6 años para el grupo control. En cuanto a la distribución por género, el grupo experimental estaba constituido por un 54,7% de mujeres y un 45,3% de hombres, mientras que el grupo control estaba constituido por un 57,5% de mujeres y un 42,5% de hombres, observándose una adecuada homogeneidad en la distribución de ambos grupos, prevaleciendo las mujeres en ambos grupos. Ambos grupos, experimental y control, estaban constituidos mayoritariamente por pacientes de clase I (53,1%, 57,5%), seguidos por clase II (39,1%, 34,5%) y con un menor porcentaje los pacientes de clase III (7,8%, 8%) respectivamente. Dentro del grupo experimental, al 53,1% de los pacientes se les había realizado extracciones, mientras que en el grupo control solo un 37,9% de los pacientes habían recibido un tratamiento con extracciones. La media del tiempo de tratamiento fue de 36,20 meses para el grupo experimental y de 32,79 meses para el grupo control.

Las distribuciones alélicas y genotípicas observadas en la muestra analizadas para el gen del TGF β se distribuyen de la siguiente forma: Pacientes con reabsorción: (Frecuencias genotípicas: [TT: 50%; CT: 40,6%; CC: 9,4%]. Frecuencias alélicas: [T: 76,9%; C: 23%]). Pacientes control: (Frecuencias genotípicas: [TT: 47,1%; CT: 35,6%; CC: 17,2%]. Frecuencias alélicas: [T: 74%; C: 25,9%]).

La citosina representa el alelo menos frecuente en ambos grupos, experimental y control, siendo la timina el alelo de mayor frecuencia. La muestra del presente estudio presentó porcentajes y distribuciones alélicas y genotípicas similares a los observados y descritos en población general.

A pesar de los indicios señalados en la literatura no se observó relación alguna entre las variaciones a nivel del gen TGF β y una mayor predisposición a sufrir RRAE tras realizar tratamiento ortodóncico (Figura 2). De este modo ninguna de las potenciales combinaciones genotípicas mostró significancia estadística en relación a una inducción o predisposición a sufrir RRAE asociada al tratamiento de ortodoncia fija. De este modo los homocigóticos para el alelo T presentaron unos resultados [OR: 1,12; $p=0,727$; IC: 0,588-2,14]. Los heterocigóticos para los alelos reseñados resultaron en [OR: 1,23; $p=0,532$; IC: 0,36-2,40], y por último los sujetos homocigóticos para el alelo restante presentaron unos resultados tal como se indican [OR: 0,49; $p=0,167$; IC: 0,181-1,36].

DISCUSIÓN

La RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia es una complicación muy común. Incluso cuando se utilizan protocolos clínicos similares al realizar los tratamientos de ortodoncia en pacientes con una misma maloclusión, la variabilidad en la severidad de la RRAE secundaria al tratamiento de ortodoncia es una realidad imprevisible. La RRAE está influenciada por una combinación de factores ambientales y de factores genéticos, no solo se da en aquellos pacientes que han recibido tratamiento de ortodoncia.

En diferentes artículos publicados, se ha determinado, que con el fin de evaluar la presencia o ausencia de RRAE, una radiografía panorámica pre-tratamiento y otra post-tratamiento aportan suficiente precisión para realizar mediciones lineales, siempre y cuando la inclinación de la cabeza del paciente al realizarse la radiografía no exceda los 10°, y el plano oclusal se encuentre en una posición similar en ambas proyecciones.^{36,61}

Estudios anteriores han determinado que la reabsorción radicular puede evaluarse adecuadamente con menos radiación utilizando una radiografía panorámica.^{27,62} Los errores de precisión absoluta, sin duda podrán registrarse mejor con un sistema de Imagen 3D, una vez que este esté disponible y su uso sea éticamente justificable.⁶³

En general, las radiografías periapicales son proyecciones más precisas que las radiografías panorámicas para estos objetivos; no obstante, debemos tener en cuenta que la toma seriada de radiografías periapicales no es un tipo de práctica o arma diagnóstica que suele hacerse de forma estandarizada en los tratamientos de ortodoncia. La realización de este tipo de proyecciones paralelizadas y estandarizadas de radiografías periapicales, a pesar de ser las ideales, no son factibles hoy en día para el abordaje y clarificación de la hipótesis propuesta, por no estar justificadas éticamente, tal y como ocurre en el presente estudio.^{36,64}

Es por ese motivo, que en el presente estudio hemos empleado radiografías panorámicas en lugar de radiografías periapicales siguiendo la metodología descrita por autores como Al-Qawasmí.³⁶ Incluso existen autores como Katona y cols que han afirmado que ni siquiera las radiografías periapicales son fiables en la valoración de la RRAE, existiendo el riesgo de subestimarse.⁶⁵

A pesar de lo descrito anteriormente, el obtener una precisión absoluta a la hora de realizar las mediciones sobre imágenes en dos dimensiones como constituyen las proyecciones radiográficas es difícil, por lo que errores en relación a la precisión son prácticamente inevitables en este tipo de medicio-

ARTÍCULO ORIGINAL

Papel del TGFB en la influencia genética a la reabsorción radicular...

nes, hasta que en un futuro el empleo de un sistema en tres dimensiones esté totalmente justificado desde un punto de vista ético, concepto a día de hoy totalmente injustificado ni legalmente admitido.⁶³

Nosotros hemos adoptamos un método publicado previamente a la hora de realizar todas las mediciones, por lo que una comparación global podría hacerse entre nuestros resultados y los datos de otros estudios llevados a cabo en el mismo campo de investigación.^{36,66}

Recientemente diferentes estudios llevados a cabo por diferentes autores en esta área de ortodoncia, han determinado la susceptibilidad adquirida genéticamente.^{36,67,68-69}

De acuerdo a nuestro conocimiento, hasta el momento, no existe ningún estudio que haya determinado la asociación directa entre el TGFB y la susceptibilidad a la reabsorción radicular apical externa. Es por eso que el objetivo de este trabajo de investigación fue determinar si sujetos con variaciones genéticas a nivel del gen del TGFB presentaban una predisposición o riesgo aumentado de sufrir RRAE en aquellos pacientes que son tratados ortodómicamente. Tras corroborar nuestros resultados, el presente estudio ha determinado que la variación a nivel de la secuencia específica codificante para el gen TGFB no tienen relación directa de aumento o protección en relación a la reabsorción radicular apical externa como consecuencia del tratamiento ortodóncico.

IMPLICACIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Una mejor comprensión de los factores genéticos que pueden predisponer a los individuos a padecer RRAE, sobre todo si se combina con el tratamiento de ortodoncia, pueden ayudar a identificar a aquellas personas con mayor susceptibilidad antes del tratamiento de ortodoncia. La implicación directa se ejemplificaría en que una predisposición familiar puede ser documentada (para influir en el grado de RRAE), se reconocería a aquellos pacientes con una mayor predisposición individual y se podría más estrechamente monitorear a aquellos pacientes en riesgo y desacelerar o interrumpir el tratamiento.^{69,70}

CONCLUSIONES

Los resultados descritos en este estudio indican que heredar un alelo específico para el gen del TGFB no es un factor determinante de la susceptibilidad genética a padecer RRAE en pacientes sometidos a tratamiento ortodóncico. <-|

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría por último agradecer a la SEDO la oportunidad que me ha brindado de presentar este

trabajo que con tanta ilusión realizamos el equipo del Máster de Ortodoncia de la Universidad de Sevilla. Agradecer el habernos concedido el premio "Juan Pedro Moreno", que con tanto entusiasmo disfruté en el pasado congreso de Islantilla y la cálida acogida que recibí en la cena de clausura. También quiero agradecer a la dirección de la revista el animarme a escribir este artículo. Gracias a todos.

BIBLIOGRAFÍA

1. PATEL S, FORD TP. *Is the resorption external or internal?* Dent Update. 2007;34:218-29.
2. BILLE ML, NOLTING D, KVETNY MJ, KJAER I. *Unexpected early apical resorption of primary molars and canines.* Eur Arch Paediatr Dent. 2007;8:144-9.
3. BILLE ML, KVETNY MJ, KJAER I. *A possible association between early apical resorption of primary teeth and ectodermal characteristics of the permanent dentition.* Eur J Orthod. 2008;30:346-51.
4. BREZNIAK N, WASSERSTEIN A. *Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part I: The basic science aspects.* Angle Orthod. 2002;72:175-9.
5. FUSS Z, TSEHIS I, LIN S. *Root resorption--diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors.* Dent Traumatol. 2003;19:175-82.
6. OUSEHAL L, LAZRAN L, ESSMAALI FE, NGOM PI. *Apical root resorption in patients wearing orthodontic appliances.* Odontostomatol Trop. 2012;35:12-8.
7. TOPKARA A. *External apical root resorption caused by orthodontic treatment: A review of the literature.* Eur J Paediatr Dent. 2011;12:163-6.
8. BREZNIAK N, WASSERSTEIN A. *Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: The clinical aspects.* Angle Orthod. 2002;72:180-4.
9. HAROKOPAKIS-HAJISHENGALLIS E. *Physiologic root resorption in primary teeth: Molecular and histological events.* J Oral Sci. 2007;49:1-12.
10. YILDIRIM S, YAPAR M, SERMET U, SENER K, KUBAR A. *The role of dental pulp cells in resorption of deciduous teeth.* Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology. 2008;105:113-20.
11. HENRY JL, WEINMANN JP. *The pattern of resorption and repair of human cementum.* Journal of the American Dental Association. 1951;42:270-90.
12. MASSLER M, MALONE AJ. *Root resorption in human permanent teeth.* Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1954;40:619-33.
13. BATES S. *Absorption.* Br J Dent Sci. 1856;1:256.
14. OTTOLENGUI R. *The physiological and pathological resorption of tooth roots Items of Interest.* Dent Items of Interest. 1914;36:332-362.

- ¹⁵ ABASS SK, HARTSFIELD JR. JK. *Investigation of genetic factors affecting complex traits using external apical root resorption as a model*. Semin Orthod. 2008;14:115-24.
- ¹⁶ HARTSFIELD JK Jr, EVERETT ET, AL-QAWASMI RA. *Genetic factors in external apical root resorption and orthodontic treatment*. Crit Rev Oral Biol Med. 2004;15:115-22.
- ¹⁷ LUND H, GRÖNDAHL K, HANSEN K, GRÖNDAHL HG. *Apical root resorption during orthodontic treatment*. Angle Orthod. 2012;82:480-7.
- ¹⁸ MELSEN B. *Tissue reaction to orthodontic tooth movement - A new paradigm*. Eur J Orthod. 2001;23:671-81.
- ¹⁹ HARRIS EF, KINERET SE, TOLLEY EA. *A heritable component for external apical root resorption in patients treated orthodontically*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1997;111:301-9.
- ²⁰ WELTMAN B, VIG KWL, FIELDS HW, SHANKER S, KAIZAR EE. *Root resorption associated with orthodontic tooth movement: A systematic review*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2010;137:462-76.
- ²¹ STENVIK A, MJØR IA. *Pulp and dentine reactions to experimental tooth intrusion. A histologic study of the initial changes*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1970;57:370-85.
- ²² HARRY MR, SIMS MR. *Root resorption in bicuspid intrusion. A scanning electron microscope study*. Angle Orthod. 1982;52:235-58.
- ²³ McLAUGHLIN KD. *Quantitative determination of root resorption during orthodontic treatment*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1964;50:143.
- ²⁴ MALMGREN O, GOLDSON L, HILL C, ORWIN A, PETRINI L, LUNDBERG M. *Root resorption after orthodontic treatment of traumatized teeth*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1982;82:487-91.
- ²⁵ SAMESHIMA GT, SINCLAIR PM. *Predicting and preventing root resorption: Part I. Diagnostic factors*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2001;119:505-10.
- ²⁶ LINGE L, LINGE BO. *Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1991;99:35-43.
- ²⁷ BRIN I, TULLOCH JFC, KOROLUK L, PHILLIPS C. *External apical root resorption in Class II malocclusion: A retrospective review of 1- versus 2-phase treatment*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003;124:151-6.
- ²⁸ GOLDSON L, HENRIKSON CO. *Root resorption during begg treatment: A longitudinal roentgenologic study*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1975;68:55-66.
- ²⁹ KENNEDY D, JOONDEPH D, OSTERBERG S, LITTLE R. *The effect of extraction and orthodontic treatment on dentoalveolar support*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1983 84:183-90.
- ³⁰ KALEY J, PHILLIPS C. *Factors related to root resorption in edgewise practice*. Angle Orthod. 1991;61:125-32.
- ³¹ KOOK YA, PARK S, SAMESHIMA GT. *Peg-shaped and small lateral incisors not at higher risk for root resorption*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003 123:253-8.
- ³² JUNG Y-, CHO B-. *External root resorption after orthodontic treatment: A study of contributing factors*. Imaging Science in Dentistry. 2011;41:17-21.
- ³³ NEWMAN WG. *Possible etiologic factors in external root resorption*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1975;67:522-39.
- ³⁴ GÓMEZ A, TRUJILLO S, AZUERO M. *Reabsorción radicular en dentición permanente: artículo de revisión*. Rev. Univ. odontol. 2002; 22: 41-5.
- ³⁵ HARRIS EF, ROBINSON QC, WOODS MA. *An analysis of causes of apical root resorption in patients not treated orthodontically*. Quintessence Int. 1993;24:417-28.
- ³⁶ AL-QAWASMI RA, HARTSFIELD JR. JK, EVERETT ET, FLURY L, LIU L, FOROUD TM, ET AL. *Genetic predisposition to external apical root resorption*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003;123(3):242-52.
- ³⁷ ABASS SK, HARTSFIELD JR. JK. *Orthodontics and external apical root resorption*. Semin Orthod. 2007; 13:246-56.
- ³⁸ DA CUNHA A, VITKOVIC L. *Transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) expression and regulation in rat cortical astrocytes*. J Neuroimmunol. 1992;36:157-69.
- ³⁹ STEIGERWALT RW, RUNDHAUG JE, NETTESHEIM P. *Transformed rat tracheal epithelial cells exhibit alterations in transforming growth factor- β secretion and responsiveness*. Mol. Carcinog. 1992;5:32-40.
- ⁴⁰ LYONS RM, MOSES HL. *Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation*. European Journal of Biochemistry. 1990;187:467-73.
- ⁴¹ PERALTA-ZARAGOZA O, LAGUNAS-MARTÍNEZ A, MADRID-MARINA V. *Transforming growth factor beta-1: Structure, function and regulation mechanisms in cancer*. Salud Pública Mex. 2001;43:340-51.
- ⁴² JIN GAO, SYMONS AL, BARTOLD MP. *Expression of transforming growth factor- β receptors types II and III within various cells in the rat periodontium*. J Periodont Res. 1999;34:113-22.
- ⁴³ BAYLINK DJ, FINKELMAN RD, MOHAN S. *Growth factors to stimulate bone formation*. Journal of Bone and Mineral Research. 1993;8:S565-72.
- ⁴⁴ THE WORLD MEDICAL ASSOCIATION [página web]. Ferney-Voltaire, France: WMA; 2004 [fecha de acceso: ...].

ARTÍCULO ORIGINAL

Papel del TGF β en la influencia genética a la reabsorción radicular...

- 24/02/2012]. Publications [WMA Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects]. <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>
- 45 PEREIRA S, LAVADO N, NOGUEIRA L, LOPEZ M, ABREU J, SILVA H. Polymorphisms of genes encoding P2X7R, IL-1 β , OPG and RANK in orthodontic-induced apical root resorption. *Oral Dis*. 2014;20:659-67.
 - 46 IGLESIAS-LINARES A, YAÑEZ-VICO R, BALLESTA-MUDARRA S, ORTIZ-ARIZA E, ORTEGA- RIVERA H, MENDOZA-MENDOZA A, ET AL. Postorthodontic external root resorption is associated with IL1 receptor antagonist gene variations. *Oral Dis*. 2012;18:198-205.
 - 47 BASTOS LAGES EM, DRUMMOND AF, PRETTI H, COSTA FO, LAGES EJ, GONTIJO AI, ET AL. Association of functional gene polymorphism IL-1 β in patients with external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;136:542-546.
 - 48 FONTANA MLSSN, DE SOUZA CM, BERNARDINO JF, HOETTE F, HOETTE ML, THUM L, ET AL. Association analysis of clinical aspects and vitamin D receptor gene polymorphism with external apical root resorption in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012;142:339-47.
 - 49 NANEKRUNGSAN K, PATANAPORN V, JANHOM A, KORMWANICH N. External apical root resorption in maxillary incisors in orthodontic patients: Associated factors and radiographic evaluation. *Imaging Science in Dentistry*. 2012;42:147-54.
 - 50 LEVANDER E, MALMGREN O. Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: A study of upper incisors. *Eur Orthod*. 1988;10:30-8.
 - 51 FOX N. Longer orthodontic treatment may result in greater external apical root resorption. *Evid Based Dent*. 2005;6:21.
 - 52 McFADDEN WM, ENGSTROM C, ENGSTROM H, ANHOLM JM. A study of the relationship between incisor intrusion and root shortening. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1989;96:390-6.
 - 53 LINGE BO, LINGE L. Apical root resorption in upper anterior teeth. *Eur J Orthod*. 1983;5(3):173-83.
 - 54 DESHIELDS RW. A study of root resorption in treated class II, division I malocclusions. *Angle Orthod*. 1969;39:231-45.
 - 55 BAUMRIND S, KORN EL, BOYD RL. Apical root resorption in orthodontically treated adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1996;110:311-20.
 - 56 MIRABELLA AD, ARTUN J. Risk factors for apical root resorption of maxillary anterior teeth in adult orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1995 Jul;108:48-55.
 - 57 CASA MA, FALTIN RM, FALTIN K, SANDER F-, ARANA-CHAVEZ VE. Root resorptions in upper first premolars after application of continuous torque moment: Intra-individual study. *Journal of Orofacial Orthopedics*. 2001;62:285-95.
 - 58 HARRIS EF. Interpreting heritability estimates in the orthodontic literature. *Semin Orthod*. 2008;14:125-34.
 - 59 LINHARTOVA P, CERNOCHOVA P, HOLLA LI. IL1 gene polymorphisms in relation to external apical root resorption concurrent with orthodontia. *Oral Dis*. 2013;19:262-70.
 - 60 HOUSTON WJB. The analysis of errors in orthodontic measurements. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1983;83:382-90.
 - 61 STRAMOTAS S, GEENTY JP, PETOCZ P, DARENDELEIR MA. Accuracy of linear and angular measurements on panoramic radiographs taken at various positions in vitro. *Eur J Orthod*. 2002; 24: 43-52.
 - 62 PANDIS N, NASIKA M, POLYCHRONIOPOULOU A, ELIADES T. External apical root resorption in patients treated with conventional and self-ligating brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2008;134:646-51.
 - 63 DE AZEVEDO VAZ SL, VASCONCELOS TV, NEVES FS, DE FREITAS DQ, HATER-NETO F. Influence of cone-beam computed tomography enhancement filters on diagnosis of simulated external root resorption. *J Endod*. 2012;38:305-308.
 - 64 HENDRIK I, CARELS C, KUIJPERS-JAGTMAN AM, VAN'T HOF M. A radiographic study of posterior apical root resorption in orthodontic patients. *Am J Orthod*. 1994;105:345-349.
 - 65 KATONA TR. The flaws in tooth root resorption assessment algorithms: the role of source position. *Dentomaxillofac Radiol*. 2007;36:311-316.
 - 66 GULDEN N, EGGERMANN T, ZERRES K, BEER M, MEINELT A, DIEDRICH P. Interleukin-1 polymorphisms in relation to external apical root resorption (EARR). *J Orofac Orthop*. 2009;70:20-38.
 - 67 IGLESIAS-LINARES A, YAÑEZ-VICO RM, ORTIZ-ARIZA E, BALLESTA S, MENDOZA-MENDOZA A, PEREA E, SOLANO-REINA E. Postorthodontic external root resorption in root-filled teeth is influenced by interleukin-1 β polymorphism. *J Endod*. 2012;38:283-7.
 - 68 IGLESIAS-LINARES A, YAÑEZ-VICO RM, MORENO-FERNÁNDEZ AM, MENDOZA-MENDOZA A, ORCE-ROMERO A, SOLANO-REINA E. Osteopontin gene SNPs (rs9138, rs11730582) mediate susceptibility to external root resorption in orthodontic patients. *Oral Dis*. 2014;20:307-12.
 - 69 LEVANDER E, MALMGREN O, ELIASSON S. Evaluation of root resorption in relation to two orthodontic treatment regimes: a clinical study. *Eur J Orthod*. 1994;16:223-8.
 - 70 WAINWRIGHT WM. Faciolingual tooth movement: its influence on the root and cortical plate. *Am J Orthod*. 1973;64:278-302.

- Conferencia: *"Predisposición genética a la reabsorción radicular apical externa durante el tratamiento de ortodoncia y el papel del TGFB"* I Reunion de antiguos alumnos del Master de Ortodoncia y Ortopedia dentofacial, Universidad de Sevilla.



- Comunicación oral: “*Transforming growth factor- β gene mediates External Apical Root Resorption in orthodontics.*” I European Workshop in orthodontics. Sevilla.



- Comunicación oral (segunda autora): *“Reabsorción radicular apical externa en incisivos maxilares en pacientes que han recibido tratamiento de ortodoncia: factores clínicos asociados.”* 59ª Reunión de la Sociedad Española de Ortodoncia. Oviedo.